

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ

Сборник материалов
научно-практической конференции

31 октября 2017 года



Министерство здравоохранения Республики Беларусь

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
им. С. И. Гельберга

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ,
ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ**

Сборник материалов
научно-практической конференции

31 октября 2017 года

ГрГМУ
Гродно
2017

УДК 616_093)-098+612.017.1+616.9]:005.745(06)

ББК 52.64+28.074+55.14я43

А437

Рекомендовано Редакционно-издательским советом ГрГМУ
(протокол № 13 от 23.10.2017).

Редакционная коллегия: доц. каф. микробиологии, вирусологии и
иммунологии им. С. И. Гельберга, канд. биол. наук
М. В. Горецкая (отв. редактор);
доц. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии
им. С. И. Гельберга, канд. мед. наук Т. Н. Соколова
(отв. редактор).

Рецензенты: зав. каф. медицинской биологии и генетики, канд. мед. наук,
доц. Л. С. Кизюкевич;
зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии
им. С. И. Гельберга, канд. мед. наук, доц. А. И. Жмакин.

Актуальные вопросы микробиологии, иммунологии и инфектологии :
А437 сборник материалов научно-практической конференции, 31 октября 2017 г.
[Электронный ресурс] / отв. ред. М. В. Горецкая, Т. Н. Соколова. – Электрон.
дан. и прогр. (объем 2,3 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2017. – 1 электрон. опт. диск
(CD-ROM).

ISBN 978-985-558-921-2.

В сборнике представлены работы, посвященные актуальным теоретическим
и практическим вопросам микробиологии, иммунологии и инфектологии.
Содержащаяся в сборнике информация будет полезна студентам, научным и
медицинским работникам.

УДК 616_093)-098+612.017.1+616.9]:005.745(06)

ББК 52.64+28.074+55.14я43

ISBN 978-985-558-921-2

© ГрГМУ, 2017

ИССЛЕДОВАНИЕ ТУБЕРКУЛЁЗНОЙ ПАЛОЧКИ НА КАФЕДРЕ ИМЕНИ С. И. ГЕЛЬБЕРГА

Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

После открытия Робертом Кохом в 1882 г. возбудителя туберкулеза человечество с переменным успехом ведет с ним борьбу. Практически сразу начались попытки создания противотуберкулезной вакцины. Решили эту задачу французский врач, бактериолог и иммунолог, ученик Пастера – Альбер Кальметт (фр. Albert Calmette) и ветеринарный врач, бактериолог и иммунолог Камиль Герен (фр. Camille Guérin). В 1908 г. они работали в Институте Пастера в Лилле над исследованием различных питательных сред для культивирования возбудителя туберкулеза. При этом они выяснили, что на питательной среде на основе глицерина, желчи и картофеля вырастают туберкулёзные палочки наименьшей вирулентности [3]. Впоследствии они работали над получением ослабленного штамма со сниженной вирулентностью для производства вакцины. После длительного, 230 пассажей в течение 13 лет, культивирования *Mycobacterium bovis* А. Кальметт и К. Герен создали вакцину БЦЖ (Бацилла Кальметта-Герена; BCG – Bacielle Calmette-Guerin). А в 1921 году они успешно применили вакцину на людях.

В 1925 г. профессор Б. Я. Эльберт, основатель первой в Беларуси кафедры микробиологии, привез в Минск из Парижа штамм БЦЖ, который он получил непосредственно от А. Кальметта. Работу с новым штаммом Б. Я. Эльберт поручил С. И. Гельбергу, руководителю оспенного отдела института микробиологии. В то время С. И. Гельберг работал с антирабическими вакцинами, а также с противооспенными вакцинами. Детально изучив свойства штамма БЦЖ, такие как жизнеспособность, иммуногенность, вирулентность и др., С. И. Гельберг приступил к получению вакцины. Через четыре года в 1929 г. С. И. Гельберг успешно привил новорожденного ребенка в Минске, изготовленной им вакциной БЦЖ [1, 2].

С. И. Гельберг впервые в СССР показал роль в патологии человека возбудителя бычьего типа, выделил и описал атипич-

ные хромогенные и белые штаммы микобактерий, исследовал проблемы изменчивости и диссоциации микобактерий туберкулеза, а также дезинфекции при туберкулезе [2]. Его оригинальная яично-молочно-солевая среда для выращивания микобактерий туберкулеза в течение многих лет широко использовалась в практике [1].

В 1955 г. за работу «Экспериментальное изучение активности вакцины БЦЖ в связи с проблемой повышения эффективности специфической профилактики туберкулеза» С.И. Гельбергу была присуждена ученая степень доктора медицинских наук. А в 1959 г. он становится первым заведующим кафедрой микробиологии Гродненского мединститута. В этот период он активно работает совместно с коллективом кафедры по усовершенствованию микробиологического метода диагностики туберкулеза, изучению особенностей иммунитета при туберкулезе, изучению фаготипирования микобактерий, по изысканию и изучению новых вакцинных штаммов [1, 2].

90% всех вакцинных препаратов БЦЖ имеют в своем составе один из следующих штаммов микобактерии: Французский «Пастеровский» 1173 Р2; Датский 1331; Штамм «Глаксо» 1077; Токийский 172.

Массовая вакцинация новорожденных БЦЖ началась в 1962 г. Всемирная организация здравоохранения в 1974 году рекомендовала использовать вакцину БЦЖ в Расширенной программе иммунизации для профилактики туберкулеза среди детей.

На сегодняшний день каждый гражданин Беларуси еще в родильном доме на 3-5 сутки жизни бесплатно получает прививку против туберкулеза. Для иммунизации используют два варианта вакцины: БЦЖ и БЦЖ-М. В последней содержится вдвое уменьшенное количество вакцины в том же объеме. Вакцину БЦЖ используют для вакцинации здоровых новорожденных с весом не менее 2500 г. БЦЖ-М вводят детям с весом менее 2500 г, а также новорожденным, которые не были привиты в родильном доме.

За эти годы вакцинация проведена сотням миллионов людей. Иммунизация против туберкулеза является обязательной в 64 странах и рекомендована в 118 странах мира. Однако

с 2006 года несколько стран прекратили использование БЦЖ для массовой вакцинации. А ряд стран, такие как США, Нидерланды и другие, никогда не использовали БЦЖ массово.

Когда доцент А. И. Жмакин стал заведующим кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Гродненского мединститута, он инициировал процедуру присвоения кафедре имени профессора С. И. Гельберга – основателя кафедры и первого заведующего, оставившего после себя плеяду учеников и последователей. Около 30 учеников под его руководством получили ученые степени кандидатов и докторов наук, 7 из них получили звание профессора, 15 учеников стали заведующими кафедрами, директорами, заведующими отделами научно-исследовательских институтов.

С момента выхода на пенсию профессора С. И. Гельберга на кафедре научная работа с микобактериями практически не проводилась. Сотрудники были увлечены другими проблемами микробиологии. Однако по прошествии стольких лет у кафедры появилась возможность снова заняться вопросами изучения *Mycobacterium tuberculosis*. Доцент Т. Н. Соколова в настоящее время занимается оформлением гранта, в котором примут участие три страны: Беларусь, Украина и Польша. Основная задача – выявление латентного туберкулеза современными методами исследования. Мы надеемся, что исследования, начатые профессором С. И. Гельбергом, будут продолжены в рамках международного проекта. Как всё в мире развивается по спирали, так и наша кафедра вернется к исследованию возбудителя туберкулеза на другом витке спирали, через десятки лет, на современном уровне.

Литература

1. Гельберг, И.С. Самуил Иосифович Гельберг. Очерк жизни и деятельности / И.С. Гельберг // Научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ГГМУ, посвященная памяти профессора С.И. Гельберга : тез. докл. – Гродно, 2004. – С. 6-15.

2. Жмакин, А.И. Научная деятельность С.И. Гельберга / А.И. Жмакин // Научно-практическая конференция студентов и молодых ученых ГГМУ, посвященная памяти профессора С.И. Гельберга : тез. докл. – Гродно, 2004. – С. 3-6.

3. Жмакин, А.И. Практикум. Медицинская микробиология : учебное пособие для студентов медико-диагностического факультета (медико-диагностическое дело) / А.И. Жмакин, М.В. Горецкая. – Гродно : ГрГМУ, 2013. – 168 с.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗРАСНОЙ СТРУКТУРЫ ПАЦИЕНТОВ С СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ г. ГРОДНО В 2015-2016 ГОДАХ

Волосач О.С., *Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

*УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

Актуальность. В настоящее время инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) вызывают все большую озабоченность практических врачей. Лидирующее положение среди возбудителей ИСМП занимает *P. aeruginosa* и ее роль в развитии заболеваний неуклонно возрастает [1]. *P. aeruginosa* является причиной поздних вентиляционных пневмоний, инфекций мочевых путей, ожоговых ран, раневых и катетер-ассоциированных инфекций и др. [4]. Инфекции, вызванные данным микроорганизмом, характеризуются тяжелым течением и высокой летальностью. *P. aeruginosa* является продуцентом метало-бета-лактамаз и обладает множественной антибиотикорезистентностью, передаваемой R-плазмидами [3]. Наличие резистентности у многих штаммов *P. aeruginosa* к антибиотикам может отрицательно повлиять на течении эпидемического процесса в стационаре, а также создать проблемы при проведении антибактериальной терапии. Поэтому необходим постоянный микробиологический мониторинг за данным возбудителем, циркулирующим в стационарах.

Цель. Провести микробиологический мониторинг и определить возрастную структуру пациентов стационаров г. Гродно, у которых была выделена *P. aeruginosa* в 2015-2016 годах.

Материалы и методы исследования. Микробиологический мониторинг клинических изолятов *P. aeruginosa* осуществлялся на базе бактериологической лаборатории УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» (УЗ «ГОИКБ»), куда поступал материал на исследование из всех стационаров городского типа г. Гродно (центр коллективного пользования).

Забор биологического материала и идентификация выделенных возбудителей проводились по микробиологическим методикам в соответствии с инструкцией по применению МЗ РБ «Микробиологические методы исследования биологического материала» [2]. Культивация микроорганизмов проводилась на питательных средах российского производства. Рост *P. aeruginosae* определялся по характерному сине-зеленому пигменту на мясо-пептонном агаре (МПА).

Микробиологический мониторинг проводился с помощью аналитической компьютерной программы WHONET (США), рекомендованной ВОЗ.

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программ Statistica 6.0, Excel 2007. В качестве уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты. Для микробиологического исследования в лабораторию УЗ «ГОИКБ» из стационаров г.Гродно поступал различный биологический материал (отделяемое ран, отделяемое дыхательных путей, реже кровь, моча и др.), который подвергался исследованию с целью выделения *P. aeruginosa*. Из биологического материала пациентов, проходивших лечение в стационарах г. Гродно в 2015 г. были выделены 115, в 2016 г. – 84 штамма *P. aeruginosa*. Учитывая небольшое количество выделенных штаммов *P. aeruginosa* микробиологический мониторинг возрастной структуры пациентов проводился без учета локализации патологического процесса.

В 2015 г. 17 клинических изолятов *P. aeruginosa* были выделены у детей в возрасте до 18 лет, что составило 14,8% от всех штаммов, выделенных в данном году. У лиц старше 18 лет *P. aeruginosa* была выделена в 98 случаях (85,2%). Следовательно, в возрастной структуре пациентов с синегнойной инфекцией в 2015 году преобладали взрослые лица ($p < 0,05$).

В 2016 г. из 84 штаммов *P. aeruginosa* 11 (13,1%) были выделены у детей до 18 лет и 73 (86,9%) были выделены у взрослых, что также достоверно превышало количество штаммов *P. aeruginosa*, выделенных у детей ($p < 0,05$).

Далее был проведен анализ частоты выделения *P. aeruginosa* у детей до 1 года и в возрасте от 2 до 18 лет. Выделение отдельной группы детей в возрасте до 1 года продиктовано тем, что данная возрастная категория является наиболее уязвимой в плане возможности развития тяжелых, генерализованных форм синегнойной инфекции.

Результаты проведенного анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Частота выделения *P. aeruginosa* в разных возрастных группах детей в 2015-2016 гг.

Возраст	2015 г., абс/%	2016 г., абс/%
Дети до 1 года	6/35,3%	5/45,5%
Дети от 2 до 18 лет	11/64,7%*	6/54,5%
Всего	17/100%	11/100%

Примечание – * – $p < 0,05$

Таким образом, в 2015 году среди всех штаммов, выделенных от детей, 35,3% клинических изолятов *P. aeruginosa* были выделены у детей до 1 года, в возрасте от 2 до 18 лет были выделены 64,7% штаммов *P. aeruginosa*. В 2016 году 45,5% составили дети в возрасте до 1 года и 54,5% дети, возраст которых был от 2 до 18 лет.

Взрослые лица с синегнойной инфекцией были разделены на группы лиц до 50 лет и лиц, старше 50 лет.

Результаты проведенного анализа частоты выделения *P. aeruginosa* у взрослых от 19 до 50 лет и лиц, старше 50 лет представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Частота выделения *P. aeruginosa* в разных возрастных группах взрослых лиц в 2015-2016 гг.

Возраст	2015 г., абс/%	2016 г., абс/%
Лица от 19 до 50 лет	36/36,7%	24/32,9%
Лица старше 50 лет	62/63,2%*	49/67,1%*
Всего	98/100%	73/100%

Примечание – * – $p < 0,05$

Как следует из представленной таблицы, как в 2015 г., так и в 2016 г. среди взрослых с синегнойной инфекцией достоверно преобладали лица старше 50 лет – 63,2% и 67,1% соответственно.

Выводы. В результате проведенного микробиологического мониторинга установлено, что как в 2015, так и в 2016 году, среди лиц, у которых была выделена *P. aeruginosa* отчетливо отслеживается преобладание взрослых – 85,2% и 86,9% соответственно, чем детей – 14,8% и 13,1% соответственно ($p < 0,05$).

Среди взрослых лиц, как в 2015 г., так и в 2016 г. синегнойная инфекция достоверно чаще регистрировалась у лиц, старше 50 лет. Удельный вес среди взрослых с синегнойной инфекцией лиц, старше 50 лет в 2015 г. составил 63,2%, в 2016 – 67,1% ($p < 0,05$).

Среди всех обследованных детей синегнойная инфекция чаще регистрировалась у детей в возрасте 2-18 лет. В 2015 г. дети данной возрастной категории составили 64,7%, в 2016 г. – 54,5%. Вместе с тем, весьма настораживающим явился тот факт, что синегнойная инфекция у детей в возрасте до 1 года в 2015 г. регистрировалась у 35,3%, а в 2016 г. уже у 45,5% среди всех детей с данной инфекцией. Все это диктует необходимость непрерывного микробиологического мониторинга за синегнойной инфекцией в учреждениях здравоохранения, особенно в перинатальных центрах и детских учреждениях.

Литература

1. Илюкевич, Г.В. Синегнойная инфекция: в новый век со старой проблемой / Г.В. Илюкевич // Мед. новости. – 2004. – № 12. – С. 3-8.

2. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. Заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 19.03.2010 г. – Минск, 2010. – 123 с.

3. Решедько, Г.К. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ и многопрофильных стационарах России / Г.К. Решедько [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 163-179.

4. Van Delden C. Igewski B. Cell-to-cell signaling and Pseudomonasaeruginosa infections / C. Van Delden // Emerg. Infect. Dis. – 1998. – Vol. 4. – P. 551-560.

СТРУКТУРА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, ИЗ КОТОРОГО БЫЛА ВЫДЕЛЕНА *P. AERUGINOSA* У ПАЦИЕНТОВ СТАЦИОНАРОВ г. ГРОДНО В 2016 ГОДУ

Волосач О.С., *Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра инфекционных болезней

*УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

Актуальность. *P. aeruginosa*, в силу высокой резистентности и контагиозности, устойчивости ко многим антимикробным препаратам, дезинфектантам и антисептикам, является одним из ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [1]. Широкая распространенность синегнойной инфекции закономерна с учетом того, что *P. aeruginosa* является условно-патогенным микроорганизмом и встречается на слизистых оболочках и коже у большей части населения, представляя собой компонент симбионтной для человека микрофлоры. Однако при наличии факторов, снижающих резистентность организма она способна вызывать широкий диапазон инфекций, вплоть до тяжелых, инвазивных процессов, которые могут поражать практически любой орган, нередко создавая при этом угрозу для жизни больных. Группу риска возникновения синегнойной инфекции составляют пациенты с иммунодефицитными состояниями, нуждающиеся в длительной респираторной поддержке, пациенты с открытыми ранами, ожогами и др. [3]. Поэтому, несмотря на значительное количество исследований, посвященных данной проблеме, не теряют актуальности вопросы, связанные с микробиологическим мониторингом за синегнойной инфекцией.

Цель. Определить структуру биологического материала, из которого была выделена *P. aeruginosa* у пациентов стационаров г. Гродно в 2016 году.

Материалы и методы исследования. Микробиологический мониторинг клинических изолятов *P. aeruginosa* осуществлялся на базе бактериологической лаборатории УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», куда поступал материал на исследование из всех стационаров городского типа г. Гродно (центр коллективного пользования).

Забор биологического материала и идентификация выделенных возбудителей проводились по микробиологическим методикам в соответствии с инструкцией по применению МЗ РБ «Микробиологические методы исследования биологического материала» [2]. Культивация микроорганизмов проводилась на питательных средах российского производства. Рост *P. aeruginosae* определялся по характерному сине-зеленому пигменту на мясо-пептонном агаре (МПА). Микробиологический мониторинг проводился с помощью аналитической компьютерной программы WHONET (США), рекомендованной ВОЗ.

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программ Statistica 6.0, Excel 2007. В качестве уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты. Для микробиологического исследования в лабораторию учреждения здравоохранения «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» поступал различный биологический материал из 6 стационаров г. Гродно: УЗ «Больница скорой медицинской помощи» (БСМП), УЗ «Гродненская областная клиническая больница медицинской реабилитации» (ГОКБ МР), УЗ «Городская клиническая больница № 2» (ГКБ 2), УЗ «Городская клиническая больница № 3» (ГКБ 3), УЗ «Городская клиническая больница № 4» (ГКБ 4), УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница» (ГОИКБ). Из биологического материала пациентов, проходивших лечение в стационарах г. Гродно в 2016 г., были выделены 84 штамма *P. aeruginosa*.

Распределение количества выделенных культур *P. aeruginosa* по стационарам г. Гродно представлены на рисунке 1.

Как следует из представленного рисунка, больше всего клинических изолятов *P. aeruginosa* (45-53,6%) были выделены из биологического материала пациентов БСМП, что закономерно с учетом того, что БСМП является крупнейшим многопрофильным стационаром г. Гродно. Несколько меньшее количество штаммов *P. aeruginosa* были выделены из биологического материала, поступившего из ГКБ 4 и

ГОИКБ, – 17 (20,2%) и 13 (15,5%) соответственно. Удельный вес клинических изолятов *P. aeruginosa* других стационаров был небольшим и составил от 2,4 до 4,8%.



Рисунок 1. – Распределение клинических изолятов *P. aeruginosa* по стационарам

Изучена структура биологического материала из которого была выделена *P.aeruginosa* в 2016 г.

Результаты представлены на рисунке 2.

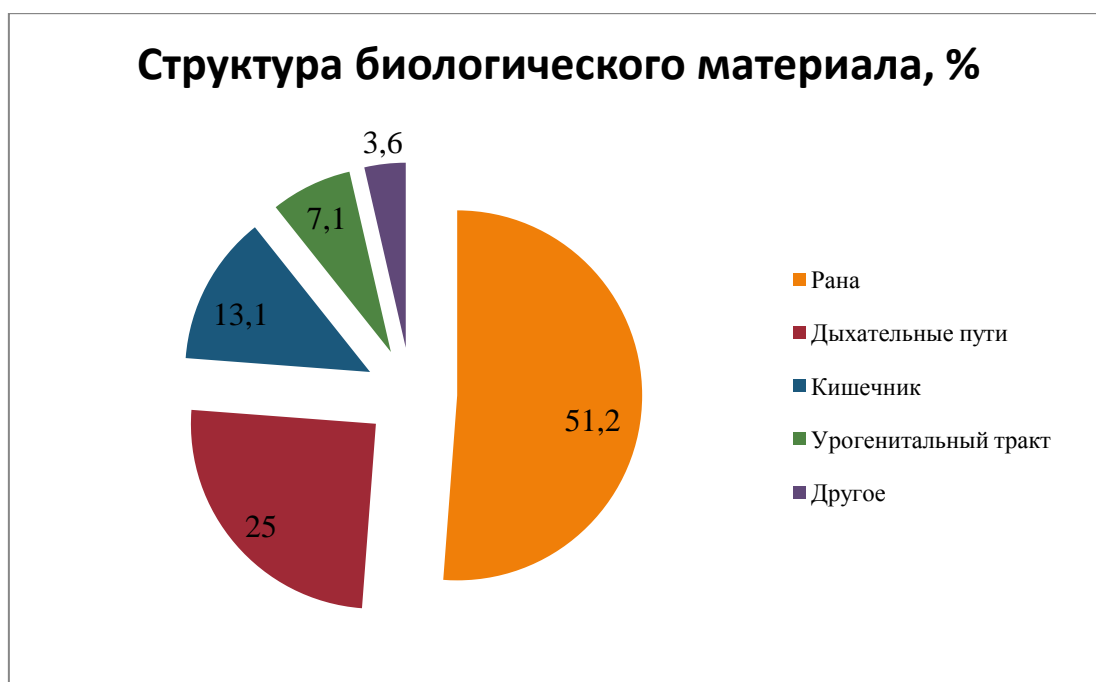


Рисунок 2. – Структура биологического материала, из которого выделена *P. aeruginosa*

Как следует из представленного рисунка, наибольшее количество клинических изолятов *P. aeruginosa* было выделено из отделяемого ран – в 51,2%, что достоверно превышало количество изолятов, выделенных из другого биологического материала: отделяемого дыхательных путей – 25%, содержимого кишечника – 13,1%, урогенитального тракта – 7,1% ($p < 0,05$). Количество штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из другого биологического материала (отделяемого уха, глаз и др.) было невелико и составило 3,6%.

Выводы. В результате проведенного исследования установлено, что *P. aeruginosa* может вызывать гнойно-септические процессы различной локализации, т. е., по сути, является политропным возбудителем. Поэтому необходим динамический микробиологический мониторинг за циркуляцией данного возбудителя в отделениях и стационарах различного профиля.

Литература

1. Голубкова, А.А. Практический опыт организации противоэпидемиологических мероприятий при формировании госпитального штамма *Pseudomonas aeruginosa* / А.А. Голубкова [и др.] // Главная медицинская сестра. – 2011. – № 4. – С. 57-62.

2. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. Заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 19.03.2010 г. – Минск, 2010. – 123 с.

3. De Bentzmann, S. The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections / S. De Bentzmann [et al.] // Environ Microbiol. – 2011. – Vol. 13, № 7. – P. 1655-1665.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ АУТОВАКЦИНОТЕРАПИИ ПРИ СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Волосач О.С., *Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

*УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», Беларусь

Актуальность. Отмеченное в настоящее время глобальное нарастание резистентности микроорганизмов к противомикробным препаратам вызывает все большую озабоченность исследователей и практических врачей [4]. *P. aeruginosa* является частым возбудителем инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, а также одним из наиболее «проблемных» микроорганизмов в отношении

рационального подбора этиотропной терапии из-за множественной антибиотикорезистентности, а также как продуцент метало-бета-лактамаз [3]. Все это диктует необходимость поиска новых, высокоэффективных методов лечения синегнойной инфекции. Общепринятыми принципами терапии являются комплексность, этиологическая, патогенетическая обоснованность и индивидуальный подход. Всем этим принципам отвечает, на наш взгляд, метод индивидуальной иммунотерапии – аутовакциноterapia [1].

Цель. Оценить микробиологическую эффективность аутовакциноterapia при синегнойной инфекции.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились 28 пациентов с синегнойной инфекцией в возрасте от 1 года до 57 лет. Пациенты в зависимости от возраста были распределены на 3 группы: 1-ю группу составили 8 детей в возрасте от 1 года до 18 лет, 2-ю группу – 9 пациентов в возрасте от 19 до 30 лет и 3-ю – 11 пациентов старше 30 лет.

Микробиологическому исследованию подвергался различный биологический материал (кал, моча, отделяемое ран, дыхательных путей и др.) с целью выделения *P. aeruginosa*. Забор биологического материала и идентификация выделенных возбудителей проводились по микробиологическим методикам в соответствии с инструкцией по применению МЗ РБ «Микробиологические методы исследования биологического материала» [2]. Культивация микроорганизмов проводилась на питательных средах российского производства. Рост *P. aeruginosae* определялся по характерному сине-зеленому пигменту на мясо-пептонном агаре (МПА).

Из выделенных возбудителей готовили аутовакцину. В случае выделения возбудителя в виде монокультуры готовилась моноаутовакцина, при выделении нескольких возбудителей готовилась полиаутовакцина. Приготовление и применение аутовакцины проводилось согласно инструкции по применению «Метод комбинированной иммунотерапии пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, осложненными кандидозом».

Курс лечения состоял из 6-10 инъекций, выполняемых внутрикожно-подкожным методом с интервалом 72-96 часов (в зависимости от возраста и выраженности местной и общей реакций на вакцинацию).

У всех пациентов бралось закрепленное подписью информированное согласие на проведение курса аутовакциноterapia.

Микробиологическая эффективность аутовакциноterapia оценивалась через 4-6 недель после ее проведения. Критерием микробиологической эффективности было отсутствие или значительное умень-

шение выделения *P. aeruginosa* из биологического материала пациентов. Учитывая небольшое количество пациентов оценка микробиологической эффективности аутовакцинолтерапии проводилась без учета локализации патологического процесса.

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программ Statistica 6.0, Excel 2007. В качестве уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты. При микробиологическом исследовании биологического материала оценивался характер колоний и массивность роста микроорганизмов. Массивность роста *P. aeruginosae* оценивалась как: единичные колонии до 10 КОЕ/ТАМ; массивный рост – количество колоний не поддается подсчету. Результаты микробиологического обследования пациентов до и после аутовакцинолтерапии представлены в таблице.

Таблица – Микробиологическая эффективность аутовакцинолтерапии в отношении *P. aeruginosae*

Группы пациентов (кол-во)	После аутовакцинолтерапии, абс./%					
	от. р.	ед. к.	м. р.	от. р.	ед. к.	м. р.
1 группа (8)	0	0	8 100	5 62,5*	2 25	1 12,5
2 группа (9)	0	0	9 100	6 66,7*	1 11,1	2 22,2
3 группа (11)	0	0	10 100	7 63,6*	2 18,2	2 18,2
Всего (28)	0	0	28 100	18 64,3*	5 17,85	5 17,85

Примечания

- 1 – от. р. – отсутствие роста колоний;
- 2 – ед. к. – единичные колонии;
- 3 – м. р. – массивный рост;
- 4 – * – $p < 0,05$

Как следует из представленной таблицы, у всех обследованных пациентов до проведения аутовакцинолтерапии определялся массивный рост *P. aeruginosae* (100%).

После проведенного курса аутовакцинолтерапии среди пациентов 1 группы (n=8) отсутствие роста *P. aeruginosae* отмечено у 62,5% пациентов, выделение единичных колоний наблюдалось у 25%, и массивный рост сохранялся у 12,5% пациентов данной группы.

Среди пациентов 2 группы (n=9) отсутствие выделения *P. aeruginosae* наблюдалось у 66,7% пациентов, выделение единичных колоний отмечено у 11,1% и массивный рост сохранялся у 22,2% пациентов.

В 3 группе (n=11) после аутовакциноотерапии отсутствие роста *P. aeruginosa* было отмечено у 63,8% пациентов, выделение единичных колоний или сохранение массивного роста *P. aeruginosa* отмечено по 18,2% пациентов данной группы.

В целом, после проведенной аутовакциноотерапии отсутствие выделения *P. aeruginosa* отмечено у 64,3% пациентов, выделение единичных колоний или массивный рост сохранялся у 17,85% пациентов.

После аутовакциноотерапии отмечалось значимое уменьшение выделения *P. aeruginosa* как в целом, так и в отдельных группах ($p < 0,001$ критерий МакНемара χ^2).

Выводы. Таким образом, в каждой из групп по отдельности и в целом отмечено достоверное преобладание отсутствия выделения *P. aeruginosa* из биологического материала над выделением единичных колоний или сохранением массивного роста возбудителя ($p < 0,05$).

Проведение аутовакциноотерапии показало высокую микробиологическую эффективность – отсутствие или значительное уменьшение выделения *P. aeruginosa* из патологического материала пациентов с синегнойной инфекцией.

Литература

1. Волосач, О.С. Применение аутовакциноотерапии для коррекции дисбиотических нарушений, вызванных условно-патогенной микрофлорой / О.С. Волосач // Инфекционные болезни человека. Матер. V съезда инфекционистов РБ. – Минск, 2003. – С. 186-189.

2. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. Заместителем Министра здравоохранения Республики Беларусь – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 19.03.2010 г. – Минск, 2010. – 123 с.

3. Осипова, В.А. Мониторинг резистентности микроорганизмов к антибактериальным средствам как элемент системы эпидемиологического надзора и ключевое направление Европейского стратегического плана действий по проблеме / В.А. Осипова [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 92-97.

4. Яковлев, С.В. Антибиотикорезистентность в стационаре: контролируем ли мы ситуацию? / С.В. Яковлев [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2010. – Т. 55, № 1-2. – С. 50-58.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ПОВЫШЕННЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ ИЗОНИАЗИДА ПРИ НАЛИЧИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К СТАНДАРТНЫМ

Гельберг И.С., Рублевская М.В., Санукевич Т.Г.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра фтизиопульмонологии

Актуальность. Одним из главных факторов, препятствующих достижению высокой эффективности лечения больных туберкулезом, является множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) и особенно ее неблагоприятный вариант – широкая лекарственная устойчивость (ШЛУ) микобактерий туберкулеза (МБТ). В последнем случае имеется в виду ситуация, когда наряду с изониазидом (Н) и рифампицином, другими препаратами, микобактерии устойчивы к наиболее эффективным, резервным препаратам – аминогликозидам и фторхинолонам (при туберкулезе в настоящее время используется капреомицин, реже амикацин, левофлоксацин и моксифлоксацин). В этих случаях затруднительно, а иногда невозможно создать эффективную комбинацию противотуберкулезных препаратов и приходится переходить на паллиативное лечение, что часто приводит к летальному исходу.

Поэтому, согласно существующим инструкциям, допускается применение повышенных доз изониазида к стандартным концентрациям которого (1 мкг/мл среды) у пациентов имеется ЛУ МБТ. По имеющимся данным [1, 2, 3, 4] при этом может быть достигнута концентрация препарата, в крови до 10 мкг/мл, а при внутривенном введении – до 20-30 мкг/мл.

В то же время в доступной литературе отсутствуют данные о характере лекарственной чувствительности (ЛЧ) к повышенным дозам Н в Беларуси, что не позволяет при их назначении быть уверенным в эффективности.

Цель. Определить возможность и целесообразность применения повышенных доз Н при туберкулезе с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя путем изучения чувствительности выделенных штаммов МБТ к различным концентрациям препарата в плотной питательной среде.

Материалы и методы исследования. Было проведено тестирование на лекарственную чувствительность (ТЛЧ) к Н культур МБТ, выделенных от пациентов с туберкулезом легких с наличием ЛУ к стандартным концентрациям в плотной питательной среде Левен-

штейна-Йенсена в 1 мкг препарата в 1 мл среды. Возраст обследованных от 35 до 71 года. Все пациенты были с наличием МЛУ МБТ, а у 13 имелась ШЛУ МБТ. Лечение осуществлялось в отделении для МЛУ МБТ ГОКЦ «Фтизиатрия» (4 пациента), Волковском противотуберкулезном диспансере (11 пациентов), туберкулезной больнице «Бояры», предназначенной для пациентов с МЛУ-туберкулезом, нарушающих режим или уклоняющихся от лечения (17 пациентов), туберкулезной больницы «Ошмяны», куда направляются пациенты с ШЛУ-МБТ (8 пациентов). Всего обследовано 40 пациентов. Была специально изготовлена питательная плотная среда Левенштейна-Йенсена с разными концентрациями Н помимо стандартной (1 мг/мл): 3 мкг Н/1 мл среды, 5 мкг/мл, 7 мкг/мл, 10 мкг/мл. Посев культуры МБТ производился согласно существующим правилам, срок выдерживания в термостате при 37°С – 90 дней.

Результаты. В таблице приводятся результаты проведенного ТЛЧ с различными концентрациями изониазида в плотной питательной среде Левенштейна-Йенсона.

Таблица. – Результаты ТЛЧ МБТ с различными концентрациями изониазида в плотной питательной среде

Концентрация изониазида в питательной среде	Всего культур МБТ	Чувствительны, число культур	Устойчивы, число культур	Процент чувствительных культур	Процент устойчивых культур
1 мкг/мл	40	0	40	0	100,0
3 мкг/мл	40	3	37	7,5	32,5
5 мкг/мл	40	8	32	20,0	80,0
7 мкг/мл	40	10	30	25,0	75,0
10 мкг/мл	40	20	20	50,0	50,0

У всех пациентов (100%) выделенные МБТ были устойчивы к стандартному уровню Н – 1 мкг/мл среды. С повышением концентрации препарата в среде увеличивается число чувствительных штаммов от 7,5% к 3 мкг/мл среды до 20% – к 5 мкг/мл, 25% – к 7 мкг/мл, 50% – к 10 мкг/мл. При этом имеются случаи с наличием ЛЧ при более низкой концентрации препарата и устойчивости при более высокой (культуры № 2, № 18, № 24, № 34). Из общего числа пациентов всего два человека были с впервые выявленным туберкулезом. У одного из них определялась чувствительность штамма МБТ только к 3 мкг/мл Н в среде, у другого – ЛУ ко всем концентрациям.

Среди обследованных пациентов 17 (42,5%) были с наличием МЛУ МБТ, у 10 (25%) определялось пре-ШЛУ, т. е. ЛУ помимо Н и

рифампицина, также к аминогликозидам или фторхинолоновым препаратам, среди наших пациентов – только к фторхинолонам. В 13 (32,5%) случаях имела место ШЛУ, т. е. ЛУ к аминогликозидам и фторхинолонам, наряду с Н и рифампицином. При этом во всех группах возможно наличие ЛУ и к другим препаратам. При изучении чувствительности МБТ к повышенным концентрациям изониазида в плотной питательной среде значительных различий между группами не было выявлено. Так при наличии МЛУ МБТ ЛУ 3 мкг/мл Н в плотной среде определялось в 82,3%, пре-ШЛУ-МБТ у 100%, ШЛУ МБТ 92,3% пациентов. Различие незначительное ($p > 0,05$). Аналогичные результаты получены при концентрации в 5 мкг/мл – 70,6%, 90%, 84,8% соответственно, 7 мкг/мл – 76,5%, 70% и 69,2%. При концентрации в 10 мкг/мл – различие выражено несколько больше – 52,9%, 30%, 38,5% соответственно, однако ввиду небольшого числа пациентов различие также недостоверно.

Полученные данные свидетельствуют о различном характере чувствительности к повышенным концентрациям Н у пациентов с наличием ЛУ к 1 мкг/мл среды. Частота наличия чувствительных культур нарастает и доходит до 50% при 10 мкг/мл плотной питательной среды, т. е. достигаемой концентрации препарата в крови, особенно при его внутривенном введении. Целесообразно продолжить исследования, особенно при первичной ЛУ, а также при наличии ШЛУ, когда и возникает необходимость в назначении изониазида, т. к. имеется ЛУ МБТ к 6-ти и более препаратам. Назначить повышенные дозы Н пациентам лучше парентерально. Необходимо проводить ТЛЧ дополнительно хотя бы с одной концентрацией Н – в 10 мкг/мл питательной среды. При наличии ЛУ к этой дозировке назначение Н нецелесообразно.

Выводы:

1. Штаммы МБТ, обладающие ЛУ к стандартным концентрациям изониазида (1 мкг/мл) могут быть чувствительными к его повышенным концентрациям. Однако, частота ЛЧ невысока: от 7,5 до 25% при концентрациях препарата в среде 3-7 мкг/мл, и только при 10 мкг/мл увеличивается до 10 мкг/мл, достигаемой в крови пациента в основном при парентеральном введении.

2. Отсутствует существенное различие к чувствительности МБТ к повышенным концентрациям изониазида в зависимости от спектра исходной ЛЧ МБТ: МЛУ, пре-ШЛУ, ШЛУ.

3. Назначение повышенных доз изониазида целесообразно в основном парентерально при ШЛУ МБТ, когда отсутствуют возможности формирования эффективной схемы препаратов.

4. Изониазид следует применять в основном парентерально с контрольным определением чувствительности МБТ к 10 мкг/мл изониазида в питательной среде и при наличии ЛУ препарат отменять.

Литература

1. Бондарев, И. И. Эффект насыщения микобактерий туберкулеза – теоретическая основа метода предельных концентраций туберкулостатических препаратов / И. И. Бондарев // Пробл. туб. – 1974. – № 6 – С. 4-10.

2. Бондарев, И. М. Жигалина, Л. И., Соколова, Г. В. Экспрессное внутривенное введение комплекса противотуберкулезных препаратов при лечении деструктивного туберкулеза легких / И. М. Бондарев, Л. И. Жигалина, Г. В. Соколова // Пробл. туб. – 1977 – № 7 – С. 35-38.

3. Левашов, Ю. М. Репин Ю. М. Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу / Ю. Н. Левашов, Ю. М. Репин. – С. 52-53.

4. Хоменко, А. Г. Химиотерапия туберкулеза легких / А. Г. Хоменко. – М., 1980. – 210 с.

СОВРЕМЕННЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Диагностика латентной туберкулезной инфекции традиционно проводится с применением пробы Манту *in vivo*, при этом наблюдается нарастание частоты ложноотрицательных результатов у пациентов с иммуносупрессией.

Кожный тест с туберкулином, известный с конца XIX в., был единственным методом диагностики латентной туберкулезной инфекции. По реакции гиперчувствительности замедленного типа оценивали клеточный иммунитет в ответ на воздействие специфических белков возбудителя [1].

Стандартные методы ранней диагностики обладают недостаточной информативностью, что приводит к выявлению специфического процесса на этапе хронического течения. Внедрение новых иммунологических тестов в лабораторную практику с целью раннего выявления заболевания является актуальным [3].

Цель. Оценить современные иммунологические методы диагностики туберкулеза.

Иммунологические методы, в частности серологические исследования по определению антигенов и антител и клеточные тесты

in vitro, достаточно широко используются в клинической практике для диагностики туберкулеза. К современным методам серодиагностики туберкулеза относятся иммуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ и дот-блоттинг (dot-blotting – используется для обнаружения нуклеотидных последовательностей в смеси, а также определения их концентрации). Эти методы являются модификациями твердофазного иммуноферментного анализа или ELISA, впервые описанного в 1971 г. E. Engvall и P. Perlmann. Для повышения специфичности иммуноферментного анализа продолжают поиски более специфичных антигенов, в том числе полученных генно-инженерным путем (ESAT-6 и др.). Следует отметить, что применение строго специфичных антигенов, повышая специфичность, уменьшают чувствительность анализа [3].

Большинство исследователей считают более информативным изучение специфического иммунного ответа. При туберкулезной инфекции специфическими тестами, используемыми в диагностике, в том числе внелегочных форм туберкулеза, являются:

- РБТЛ (реакция бласттрансформации лимфоцитов) с туберкулином;
- РТМЛ (реакция торможения миграции лейкоцитов) под действием туберкулина;
- тест ППН (показатель повреждения нейтрофилов) с туберкулином;
- НСТ-тест (тест с нитросиним тетразолием) с туберкулином;
- определение антигенсвязывающих лимфоцитов;
- обнаружение в крови противотуберкулезных антител методом иммуноферментного анализа [3].

Туберкулин (PPD – Purified Protein Derivative – очищенный белковый дериват) содержит в своем составе около 200 антигенов, которые распространены среди рода *Mycobacterium*, т. е. встречаются не только у *Mycobacterium tuberculosis*, но и у других видов, включая вакцинный штамм *Mycobacterium bovis* BCG (БЦЖ). Частота ложноположительных реакций обосновывает необходимость поиска новых методов исследования, позволяющих подтвердить или опровергнуть специфическую природу заболевания на ранней стадии патологического процесса [1].

Решение проблемы диагностики латентной туберкулезной инфекции стало возможным в последние годы в связи с появлением высокоинформативных иммунологических тестов:

- кожной пробы *in vivo* с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест);

теста, основанного на измерении продукции гамма-интерферона (IFN- γ) Т-лимфоцитами крови *in vitro* в ответ на стимуляцию специфическими антигенами (квантифероновый тест - QuantiFERON-TB);

клеточного теста, в котором выявляют число Т-клеток, продуцирующих IFN- γ - это enzyme-linked immunospot (ELISPOT T-SPOT.TB-тест) [1, 3].

Разработка современных методов стала возможной после расшифровки генома *Mycobacterium tuberculosis* в 1998 году, а также *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium bovis* BCG. В геноме *Mycobacterium tuberculosis* закодировано около 4000 белков. В качестве специфических индукторов в диагностических целях (в первую очередь в клеточных тестах *in vitro*) используют антигены *Mycobacterium tuberculosis*, в частности ESAT-6 (Early-Secreted Antigenic Target – ранний секретируемый антиген), CFP-10 (Culture Filtrate Protein – белок культурального фильтрата), закодированные в зоне RD-1 (Region of Difference), и TB7.7 (p4), кодируемый регионом RD-11 генома *Mycobacterium tuberculosis*. Перечисленные антигены экспрессируются при размножении *Mycobacterium tuberculosis* и отсутствуют в *Mycobacterium bovis* BCG и большинстве нетуберкулезных микобактерий, за исключением *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium kansasii* и *Mycobacterium szulgai*. Следовательно, предварительная БЦЖ-вакцинация не оказывает влияния на результаты современных тестов. Таким образом, ESAT-6 и CFP-10 используются при разработке новых специфических диагностических тестов, таких как Диаскинтест, а также основанных на продукции IFN- γ в ответ на стимуляцию этими антигенами IGRA (Interferon Gamma Release Assays) квантифероновый тест и T-SPOT.TB-тест [1, 3].

Выявлено, что иммунологические методы (пробы Диаскинтест и квантифероновый тест) обладают достаточно высокой чувствительностью (75 и 90% соответственно) и специфичностью (86 и 84%). [2]. По данным других авторов, чувствительность составила от 58 до 96,7% и специфичность – до 99% [3]. Квантифероновый тест является более чувствительным тестом для пациентов с иммуносупрессией (сахарный диабет, онкологические заболевания, хроническая почечная недостаточность), чем кожный тест с туберкулином. Использование квантиферонового теста у пациентов с иммуносупрессией, при назначении кортикостероидов, противоревматических препаратов показало также прекрасные результаты. Следует отметить, если квантифероновый тест положительный, то это свидетельствует об инфицировании организма *Mycobacterium tuberculosis*, но не означает, что человек болен туберкулезом. Тест выявляет латентную форму туберкулеза,

однако не позволяет дифференцировать активную или скрытую форму инфекции, а также вероятность перехода латентного туберкулеза в активный. Величина уровня IFN- γ в квантифероновом тесте не коррелирует со стадией и степенью инфицирования, уровнем иммунной реактивности. Расшифровку результатов теста проводят в сопоставлении с клиническими и эпидемиологическими данными.

Результаты исследований свидетельствуют, что применение квантиферонового теста наиболее эффективно для выявления латентного туберкулеза. Также его активно используют для дифференциальной диагностики туберкулеза легких в качестве дополнения к рутинным методам исследования. Целесообразно более широкое применение IGRA тестов на догоспитальном диагностическом этапе [1, 2, 3].

Выводы. Таким образом, иммунологические исследования при инфицировании *Mycobacterium tuberculosis* помогают оценить состояние пациента, выявить возможные изменения в иммунной системе, а также регуляторные взаимосвязи, которые способствуют пониманию патогенеза туберкулеза.

Открытие секреторных белков ESAT-6, CFP-10 *Mycobacterium tuberculosis* способствовало созданию новых современных тестов для диагностики туберкулеза.

Инновационный квантифероновый тест, основанный на количественном определении IFN- γ методом иммуноферментного анализа, обладает высокой чувствительностью и специфичностью, что будет способствовать широкому использованию теста в диагностике туберкулеза.

Литература

1. Истомина, Е.В. Диагностика латентной туберкулезной инфекции у сотрудников противотуберкулезного учреждения / Е.В. Истомина // Медицинский альянс. – 2015. – № 2. – С. 47-55.
2. Лаушкина, Ж.А. Возможности иммунологических методов в дифференциальной диагностике туберкулеза легких/ Ж. А. Лаушкина, В. А. Краснов, Т. И. Петренко // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2017. – № 4, Т. 95. – С. 26-30.
3. Яковлева, А.А. Специфические иммунологические тесты в диагностике туберкулеза гениталий / А.А. Яковлева, А.В. Мордык // Инфекция и иммунитет. – 2014. – № 3, Т. 4. – С. 207-212.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *Mycobacterium tuberculosis*

Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Исследование состояния системы иммунитета человека при инфицировании *Mycobacterium tuberculosis* является актуальным, поскольку течение и исход заболевания в значительной степени определяется иммунным статусом пациента, а по данным Суханова Д.С. с соавторами (2009) у 98% больных туберкулезом легких выявляется иммунный дисбаланс.

Цель. Изучить особенности системы иммунитета человека при инфицировании *Mycobacterium tuberculosis*.

Сотрудничество с кафедрой фтизиопульмонологии ГрГМУ не раз затрагивало вопросы оценки различных звеньев системы иммунитета у больных туберкулезом, что отражено в наших совместных публикациях с Кротковой Е.Н. (2002), Демидик С.Н. (2010).

Mycobacterium tuberculosis сосуществует с человеком около 70 000 лет. За этот период микобактерии научились не только противостоять механизмам иммунной защиты человека, но и регулировать их в целях своего выживания.

При инфицировании человека *M. tuberculosis* ведущее значение в развитии протективного иммунитета оказывает клеточное звено. Основная роль при этом принадлежит Т-лимфоцитам, полиморфно-ядерным лейкоцитам, моноцитам и макрофагам [5].

Макрофаги в развитии туберкулеза играют двойственную роль. С одной стороны, они сдерживают инфекцию в латентной форме, а с другой, выступают убежищем для микобактерий, в том числе и посредством формирования специфической туберкулезной гранулемы [1].

Ответом макрофагов, основных клеток врожденного иммунитета, на *M. tuberculosis* является запуск механизмов апоптоза, способствуя антимикобактериальной защите. У зараженных *M. tuberculosis* макрофагов целостность митохондриальной мембраны, активность каспаз и выброс митохондриального цитохрома С сопряжены с апоптозом. Апоптоз макрофагов является важнейшим защитным механизмом при микобактериальной инфекции, уменьшая жизнеспособность бактерий, изолируя их и предотвращая их распространение. Однако в процессе эволюции вирулентные микобактерии развили способность подавлять апоптоз макрофагов, индуцируя некроз. Это приводит к неконтролируемому размножению *M. tuberculosis* в

некротизированной ткани [3]. *M. tuberculosis* снижают чувствительность макрофагов к IFN- γ , ослабляют HLA-представление антигенов и пролиферацию Т-лимфоцитов, что отражается на характере и силе иммунного ответа [2]. Классическими активаторами макрофагов считаются IFN- γ и TNF- α , при этом процесс носит дискретный характер, т. е. IFN- γ праймирует макрофаги, а TNF- α уже активирует их. В результате перехода макрофагов в активное состояние изменяется экспрессия около 25% определяемых генов, повышается микробицидный потенциал за счет усиления синтеза активных форм кислорода и азота, которые на 90% определяют цитотоксическое действие фагоцитов. Активируется микробицидная функция макрофагов, одновременно угнетается апоптоз [1].

В дендритные клетки *M. tuberculosis* проникают, прикрепляясь к их лектиновым кальций-зависимым рецепторам С-типа. В цитоплазме этих клеток *M. tuberculosis* не размножаются. Однако, оставаясь живыми, *M. tuberculosis* выделяют продукты обмена. Дендритные клетки, мигрируя по организму, становятся мощными антигенпрезентирующими клетками, оказывая значительное влияние на взаимоотношение Th1/Th2 клеток [2].

Противотуберкулезный иммунитет связан преимущественно с Th1, повышением уровня цитокинов IL-2, TNF- α , IFN- γ . Клетки Th2 продуцируют IL-4, IL-5, IL-8, способствуя продукции В-клетками иммуноглобулинов, в том числе IgE. Следует уточнить, что формирование высокого протективного иммунитета при туберкулезе связывают с ответом Th1, которые продуцируют IFN- γ , а низкую сопротивляемость к инфекции – с активностью Th2, которые секретируют IL-4 [2, 5]. Иммунный статус больных туберкулезом отличается выраженной депрессией клеточного звена иммунитета со снижением общего уровня лимфоцитов, Т-лимфоцитов, снижением CD4, иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, со значительным угнетением их функциональной активности [5].

Сенсибилизированные Т-клетки выделяют цитокины, которые активируют фагоциты, повышая их ферментативную и общую бактерицидную активность. При столкновении с макрофагом, инфицированным *M. tuberculosis*, Т-лимфоциты (CD8) продуцируют цитокины TNF- α , IFN- γ для стимуляции фагоцитов, способных уничтожать внутриклеточные бактерии через продукцию NO-соединений или другие механизмы. Кроме того, цитотоксические Т-лимфоциты могут лизировать инфицированные макрофаги с помощью перфорина и гранзимов [2].

Особенность иммунного ответа на *M. tuberculosis* заключается в одновременной активации и анергии иммунокомпетентных клеток.

Апоптоз Т-лимфоцитов, вызванный постоянной стимуляцией микобактериальными антигенами, является неблагоприятным фактором при туберкулезной инфекции. Потеря равновесия между пролиферацией Т-клеток и индуцированной активацией клеточной гибелью приводит к элиминации потенциально защищающих специфических клонов, завершающейся персистенцией инфекции и развитием вторичных иммунодефицитных состояний [3].

Гуморальный иммунитет при туберкулезе не оказывает решающее значение. Это связано с преимущественно внутриклеточным пребыванием *M. tuberculosis*, что защищает их от воздействия антител [2, 5]. Активация гуморального звена иммунитета, на фоне умеренного угнетения Т-системы, нарушения функции макрофагов, свидетельствует о прогрессировании туберкулезного процесса или его хронизации. Исследователи отмечают, что количество клеток, несущих маркеры CD3, CD4, CD8, мало отличается от нормы при ограниченном поражении легочной ткани и наблюдается выраженное их снижение при распространенных легочных процессах. Выявлено, что повышенное содержание общего сывороточного IgE при туберкулезе коррелирует с тяжестью заболевания и эффективностью терапии [5].

Туберкулез относят к цитокинзависимым иммунодефицитам [4]. Клетки крови больных туберкулезом активно вырабатывают IL-2, который оказывает активирующее влияние на Т-лимфоциты, предохраняет активированные клетки от апоптоза, усиливает выработку IFN- γ и служит дифференцировочным фактором для Т-киллеров [2].

Одной из причин прогрессирования патологического процесса туберкулеза легких является неконтролируемая, высокая продукция провоспалительных цитокинов. При инфицировании *M. tuberculosis* отмечается высокий уровень сывороточного IFN- γ [4]. Однако по данным других авторов имеются сведения о сниженной продукции сывороточного IFN- γ при туберкулезе [5]. Уровень индукции IFN- γ в образцах цельной крови больных туберкулезом в присутствии антигенов *M. tuberculosis* находится в обратной зависимости от распространенности и тяжести туберкулезного процесса. Восстановление уровня индукции IFN- γ у больных в процессе лечения коррелирует с положительной клинической динамикой [2]. IFN- γ играет важную роль среди Т-цитокинов. Известно, что IFN- γ стимулирует макрофаги и потенцирует гибель внутримакрофагальных бактерий. Также IFN- γ усиливает презентацию антигена, ведущую к накоплению CD4 Т-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов CD8, способных участвовать в киллинге микобактерий [2, 5].

Выявлено, что количество Т-лимфоцитов, содержащих внутриклеточный IFN- γ , у больных туберкулезом повышено по сравнению со здоровыми донорами и носителями латентной инфекции. Данные о высоком содержании IFN- γ -продуцирующих лимфоцитов у больных активным туберкулезом позволяют считать, что количество IFN- γ -продуцирующих клеток может являться мерой микобактериальной нагрузки и использоваться для диагностики туберкулеза [5].

Выводы. Таким образом, в развитии противотуберкулезного иммунитета принимают участие специфические и неспецифические факторы защиты организма. Высокий уровень сопротивляемости к *M. tuberculosis* развивается при кооперативном взаимодействии Т-лимфоцитов с макрофагами.

Изучение механизмов иммунного ответа при туберкулезе может помочь решить, в какой мере активация или гибель разных популяций клеток служит протективным или патологическим процессом в организме человека. Кроме того, уточнение механизмов, несомненно, повысит уровень диагностики.

Литература

1. Зенков, Н.К. Макрофаг и микобактерия: война без начала и конца / Н.К. Зенков [и др.] //Успехи современной биологии. – 2015. – № 6, Т. 135. – С. 554-574.
2. Мордык, А. В. Противотуберкулезный иммунитет и механизмы его формирования/ А. В. Мордык, Е. А. Цыганкова, Л. В. Пузырева, А. А. Туррица //Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С. 126-130.
3. Пичугин, А. В. Апоптоз клеток иммунной системы при туберкулезной инфекции / А. В. Пичугин, А. С. Апт //Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2005. – № 12. – С. 3-7.
4. Суханов, Д.С. Биологические свойства микобактерий туберкулеза, иммунный ответ и подходы к иммуотропной терапии/ Суханов Д.С., Иванова А.К., Романцов М.Г., Гельберг И.С., Вольф С.Б., Коваленко А.Л. // Профилактическая и клиническая медицина. – 2009. – № 3. – С. 230-238.
5. Яковлева, А.А. Специфические иммунологические тесты в диагностике туберкулеза гениталий / А.А. Яковлева, А.В. Мордык // Инфекция и иммунитет. – 2014. – № 3, Т.4. – С. 207–212.

КВАНТИФЕРОНОВЫЙ ТЕСТ – ИНОВАЦИОННЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Горецкая М.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. На фоне иммуносупрессии в организме человека отмечается реактивации латентной инфекции *Mycobacterium tuberculosis* с развитием туберкулеза. Для пациентов, получающих терапию ингибиторами TNF- α (например, инфликсимаб), этот риск увеличивается в 5-10 раз по сравнению с небиологическими методами лечения в тех же популяционных группах. Употребление инфликсимаба повышает риск развития туберкулеза у пациентов с ревматоидным артритом с 6,2 до 52,5 случаев на 100 тысяч пациентов. Так, например, в Южнокорейской популяции – с 8,9 до 30 случаев, а у французских пациентов, получавших лечение инфликсимабом, туберкулез был зарегистрирован у 187,5 в расчете на 100 тыс. пациентов. Эта частота значительно превышает фоновые показатели [5]. Инфликсимаб – соединение, созданное на основе гибридных мышинных и человеческих IgG₁ моноклональных антител, обладает высоким аффинитетом к TNF- α и является селективным иммунодепрессантом. Инфликсимаб быстро связывается с TNF- α и образует устойчивые соединения. В результате блокируется функциональная активность TNF- α [1-4].

Причина снижения противотуберкулезного иммунитета инфликсимабом связана со способностью инфликсимаба лизировать клетки, содержащие TNF- α на своей поверхности. Это относится и к клеткам гранулем, формирующихся вокруг *Mycobacterium tuberculosis*. Соединяясь с молекулами TNF- α на поверхности клеток гранулемы, инфликсимаб вызывает гибель этих клеток посредством апоптоза. Целостность гранулемы нарушается, и она перестает выполнять роль ограничения инфекции [5]. В связи с этим, в США в инструкцию по применению инфликсимаба внесена официальная рекомендация проводить предварительную диагностику пациентов на наличие туберкулеза.

Новые подходы к диагностике латентного и активного туберкулеза основаны на определении количества клеток, продуцирующих IFN- γ или количества IFN- γ , продуцируемого клетками периферической крови после их стимуляции антигенами *M. tuberculosis*. Квантифероновый тест (QFT) – новый иммунологический метод диагностики туберкулеза. В крови лиц, инфицированных *M. tuberculosis*, содержатся

ся лимфоциты, распознающие микобактериальные антигены. Процесс распознавания влечет за собой продуцирование и секрецию IFN- γ . Данный тест основан на обнаружении и последующем количественном анализе IFN- γ .

QFT, несмотря на высокую специфичность, в Беларуси еще не имеет широкого применения, поскольку тест дорогостоящий и для проведения требуется специализированное лабораторное оснащение, а также квалифицированный персонал. Встречаются единичные публикации об использовании данного теста в Минске. Однако по Гродно и по всей гродненской области нет информации о применении квантиферонового теста.

Цель. Оценить возможность использования квантиферонового теста для диагностики туберкулеза в Гродно.

Метод QFT использует твердофазный иммуносорбентный анализ для измерения антигенспецифической продукции IFN- γ Т-лимфоцитами крови. Для активации используют смесь белков ESAT-6, CFP-10 и TB7.7, специфических для *M. tuberculosis*. Эти белки стимулируют IFN- γ Т-клеточный ответ у людей, инфицированных *M. tuberculosis*, но не вызывают такой ответа у неинфицированных людей или людей, прошедших BCG-вакцинацию. Продолжительность метода составляет около 27 часов, включая инкубации, а также манипуляции с планшетом (выполнения основного исследования). Один планшет позволяет обработать материал 28 пациентов.

Кровь пациента отбирается в три специальные пробирки, входящие в состав набора QFT: контрольная пробирка, пробирка с антигенами *M. tuberculosis* и пробирка с митогеном фитогемагглютинином (ФГА). При постановке теста QFT пробирку с митогеном ФГА используют в качестве положительного контроля. Это особенно важно, если есть сомнения относительно иммунного статуса пациента. Нулевая проба (контрольная пробирка) охватывает коррекцию неспецифических фоновых реакций, эффектов гетерофильных антител, а также неспецифического IFN- γ в пробе крови. Следует отметить, что кровь можно отобрать и в одну отдельную пробирку с гепарином, а затем перенести кровь в специальные пробирки набора QFT. В исследовании необходимо использовать только гепарин, так как другие антикоагулянты оказывают влияние на результаты анализа. Минимальный объем крови, требуемый для проведения реакции, составляет 5 мл. Пробирки должны быть помещены в термостат с 37°C не позднее 16 часов с момента забора крови. Перед инкубацией пробы должны находиться при комнатной температуре. Не следует образцы крови помещать в холодильник и замораживать.

Пробирки необходимо инкубировать в вертикальном положении при 37°C в течение 16-24 часов. После инкубации перед центрифугированием допускается хранить их при температуре от 4°C до 27°C в течение трех дней. После центрифугирования образцы плазмы необходимо загружать непосредственно на планшеты QFT для выполнения реакции. Однако следует отметить, что образцы плазмы допускается хранить до 28 дней в холодильнике (2-8°C). В замороженном виде при температуре ниже минус 20°C плазму можно хранить в течение более продолжительного времени. Для получения необходимого количества образца для теста требуется отобрать не менее 200 мкл плазмы.

На шейкере для микропланшетов следует тщательно перемешать конъюгат, образцы плазмы, а также стандарты. Планшеты инкубируют при комнатной температуре в течение 2 часов. На протяжении этого времени планшет должен быть накрыт крышкой, и не подвергаться воздействию прямых солнечных лучей. По истечению времени инкубации следует промыть каждую лунку 96-луночного планшета буферным раствором не менее шести раз. Далее в лунки добавляют раствор ферментного субстрата и перемешивают на шейкере. Инкубируют 30 минут при комнатной температуре. После чего реакцию останавливают добавлением стоп-раствора.

Оптическую плотность (ОП) лунок планшета определяют в течение пяти минут после добавления стоп-реагента. Для этого используют ридер для микропланшет с фильтром 450 нм и референсным фильтром 620-650 нм. Значения ОП используют для расчета результатов. Определяют среднее значение ОП дубликатов рабочих стандартов на каждом планшете. Необходимо построить стандартную кривую $\log(e) - \log(e)$, по оси y наносят $\log(e)$ средних ОП, а по оси x – $\log(e)$ концентрации IFN- γ в стандартах в МЕ/мл, исключив из этих расчетов нулевой стандарт. Методом регрессионного анализа рассчитывают максимально соответствующую стандартной кривой линию. С помощью стандартной кривой для каждого исследуемого образца плазмы теста определяют концентрацию IFN- γ (в МЕ/мл), используя значение ОП для каждого образца. Точность результатов теста зависит от получения стандартной кривой. Значение IFN- γ нулевой пробирки отнимается от значения IFN- γ пробирки с антигенами *M. tuberculosis* и пробирки с митогеном ФГА. Результат считается положительным (ответ IFN- γ на стимуляцию), если концентрация IFN- γ в пробирке с антигенами *M. tuberculosis* значительно выше концентрации в нулевой контрольной пробирке.

Положительный результат теста – одно из доказательств наличия *M. tuberculosis* в организме, однако человек может быть инфицирован

и другими микобактериями (например, *M. kansasii*, или *M. szulgai*, или *M. marinum*), так как у них присутствуют гены, в которых закодированы белки ESAT-6, CFP-10 и TB7.7, что также приведет к положительному результату. Поэтому необходимы дополнительные исследования, чтобы подтвердить или исключить наличие инфекции.

В настоящее время нет сомнений в том, что при использовании инфликсимаба существует определенный риск развития туберкулеза или обострения его латентных форм. Опасность реактивации латентного туберкулеза возникает при общем угнетении активности TNF- α более чем на 70-90% [5]. Использование квантиферонового метода у пациентов с иммуносупрессией достаточно перспективно, поскольку в мировой практике показало хорошие результаты (частота получения неопределенных результатов составила всего около 10%).

Выводы. Внедрение квантиферонового метода исследования позволит повысить качество диагностики туберкулеза, особенно на фоне иммуносупрессии.

Для проведения нового квантиферонового теста в Гродно имеются все необходимые условия.

Литература

1. Горецкая, М.В. Влияние инфликсимаба на содержание аминокислот в лимфоцитах крови на фоне алкогольной интоксикации / Горецкая М.В., Шейбак В.М., Дорошенко Е.М., Кирвель П.Ч. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 12. – С. 30-33.

2. Горецкая, М.В. Антитела к фактору некроза опухоли альфа изменяют метаболическую активность в лимфоцитах тимуса на фоне алкогольной интоксикации / Горецкая М.В. // Иммунология. – 2013. – № 1. – С. 31-34.

3. Горецкая, М.В. Моноклональные антитела к фактору некроза опухоли альфа изменяют метаболическую активность в лимфоцитах на фоне хронического потребления этанола / Горецкая М.В., Шейбак В.М. // Биомедицинская химия. – 2013. – № 4. – С. 425-433.

4. Кирвель, П.Ч. Гепатопротекторный и иммуномодулирующий эффекты инфликсимаба при экспериментальном алкогольном стеатогепатите / Кирвель П.Ч., Горецкая М.В., Лукивская О.Я., Нарута Е.Е., Белоновска Е.Б., Буко В.У. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 7. – С. 36-39.

5. Лукина, Г.В. Риск развития туберкулеза при использовании ингибиторов фактора некроза опухоли- α / Г.В. Лукина, Я.А. Сигидин // РМЖ. – 2009. – № 21, Т. 17. – С. 1438-1442.

ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА ЛЮДЕЙ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ СО СТОРОНЫ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Дегтярева Е.И., Гуминская Е.Ю., Зинкевич О.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Иммунная система играет ключевую роль в сохранении здоровья и полноценной жизнедеятельности организма человека. По её показателям можно судить о физиологическом состоянии различных органов тела и важнейших систем организма, одной из которых является выделительная.

При раннем распознавании, своевременном и активном лечении пиелонефрит примерно в 60% случаев заканчивается выздоровлением. В других случаях он приобретает хроническое течение. Препятствуют окончательному выздоровлению и способствуют переходу острого пиелонефрита в хронический пиелонефрит, поздно начатое, недостаточно активное и рано оконченное лечение; устойчивость микрофлоры к противомикробным средствам; сопутствующие интеркуррентные заболевания, ослабляющие защитные силы организма и другие факторы [1].

Оценка состояния иммунитета у больных с воспалительной патологией почек – один из перспективных подходов к оптимизации патогенетической терапии, которая раскрывает эндогенные причины неадекватности защитной реакции организма, нуждающейся в целенаправленной коррекции.

Цель. Определить динамику реактивности системы иммунитета при физиологических нарушениях со стороны выделительной системы.

Материалы и методы исследования. С целью выявления изменений со стороны системы иммунитета при воспалительных патологиях почек нами были проанализированы показатели периферической крови у жителей г. Мозыря разных возрастных групп. Всего был обследован 151 житель г. Мозыря, из которых 75 человек относятся к возрастной группе от 20 до 35 лет и 76 человек к возрастной группе от 40 до 57 лет.

Исследования проводились на базе урологического отделения Мозырской городской больницы. Анализы крови проводились в клинико-диагностической лаборатории Мозырской городской больницы. Полученные экспериментальные данные статистически были обработаны.

Результаты. В ходе проведенных исследований была рассмотрена иммунологическая реактивность организма на различные гипер-

эргические воздействия со стороны внешней среды при наличии физиологических нарушений со стороны мочевыделительной системы у жителей города Мозырь.

Нами было установлено, что частота встречаемости изменений показателей иммунной системы чаще встречается у мужчин (54%), чем у женщин (46%), чаще у жителей, занимающихся физическим трудом (61%) и реже, занимающихся умственным трудом (39%).

В группе от 20 до 35 лет – частота встречаемости гломерулонефрита составляет 25%, пиелонефрита – 41% от числа обследованных.

В группе от 40 до 57 лет – встречаемость гломерулонефрита составляет – 36%, пиелонефрита – 9 % от числа обследованных.

Среди воспалительных патологий почек пиелонефрит встречается чаще в молодом возрасте (41%), а гломерулонефрит – в старшем возрасте (36%).

В результате исследований установлено, что первое место по частоте встречаемости среди физиологических нарушений со стороны мочевыделительной системы занимают пиелонефриты, которые прогрессируют в возрастной группе от 20 до 35 лет.

Характеризуя состояние системы иммунитета, при гломерулонефритах и пиелонефритах следует учитывать возрастные особенности пациентов, сопутствующие соматические заболевания и др. С возрастом у человека происходит физиологическое старение тимуса, что приводит к снижению клеточного иммунного ответа. Возрастная группа от 40 до 57 лет гораздо больше подвержена изменениям показателей иммунограммы [2].

Таким образом, возрастные особенности организма людей после 40 лет приводят к изменению в центральных и периферических органах иммунной системы, что влечет за собой истощение иммунитета в целом и неспецифической резистентности в частности.

При гломерулонефритах иммунная система больше подвержена нарушениям защитных механизмов организма, чем при пиелонефритах, так как это связано с тяжестью течения патологии мочевыделительной системы.

В результате расчетов средних показателей сывороточных иммуноглобулинов при гломерулонефритах были получены следующие данные. У 15 человек в возрастной группе от 20 до 35 лет показатели Ig класса G ниже нормы и их средние значения составили $639,0 \pm 26,2$ мг %, что ниже нормы на 81 мг %. Показатели IgM, IgA ниже нормы не были обнаружены.

У 30 человек в возрастной группе от 40 до 57 лет показатели IgG в сыворотке крови обнаружены ниже нормы, и их значения составля-

ют $498,8 \pm 49,1$ мг %. Показатели IgA в данной возрастной группе были ниже нормы у 16 человек, и составили $59,7 \pm 4,1$ мг %, что ниже нормы на 20,3 мг %.

Таким образом, у пациентов с заболеванием гломерулонефрит в иммунограмме наблюдается снижение Ig класса G во всех возрастных группах.

При пиелонефритах у 35 обследованных в возрастной группе от 20 до 35 лет показатели IgG были ниже нормы, и имели значения $569,4 \pm 28,5$ мг %. Показатели IgA данной возрастной группы ниже нормы у 14 человек и имели значения $68,2 \pm 3,0$ мг %. У 5 обследованных человек показатель IgM превышал норму и имел значение $293,4 \pm 12,8$ мг %.

У пациентов с пиелонефритами возрастной группы от 40 до 57 лет показатели IgG, IgA в сыворотке крови обнаружены ниже нормы.

Выводы:

1. С возрастом у пациентов с воспалительными патологиями почек показатели иммунограммы изменяются чаще.

2. Частота встречаемости изменений показателей иммунной системы чаще встречается у мужчин (54%), чем у женщин (46%).

3. При пиелонефритах и гломерулонефритах уменьшается количество сывороточных IgG, IgA, что говорит о снижении гуморального иммунного ответа.

Литература

1. Малащинский, Д.А. Состояние иммунной системы у больных острым пиелонефритом / Д.А. Малащинский, Н.И. Доста, К.Н. Лапуть // Медицинские новости. – 2008. – № 4. – С. 65-67.

2. Калугина, Г.В. Некоторые параметры иммунитета при хроническом пиелонефрите у взрослых / Г.В. Калугина, М.С. Клушанцева. – М.: Медицина. – 2001. – № 2. – С. 6-9.

РОЛЬ СТОЧНЫХ ВОД ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЁМОВ ГОРОДА ГОМЕЛЯ И ГОМЕЛЬСКОГО РАЙОНА

Дегтярёва Е.И., Сотникова В.В., Волчек В.С.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Водоемы, располагающиеся на территории г. Гомеля и Гомельского района – это один из основных источников воды для населения данного региона. На исследуемые водные объекты оказывается сильное антропогенное воздействие – выброс сточных

вод, которое и обуславливает высокую загрязненность водных объектов на данной территории.

Цель. Оценить роль сточных вод в микробиологическом загрязнении водоемов города Гомеля и Гомельского района.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе УЗ «Республиканский государственный центр гигиены и эпидемиологии» г. Гомеля. Отбор проводился из среднего горизонта с учётом требований асептики. Перед посевом пробы тщательно, без образования пены, перемешивали не менее 30 секунд и фламбировали край ёмкости. Исследуемые пробирки и чашки маркировали. Новые порции воды для анализа тщательно перемешивали. Перед посевом раствор для разведения (физиологический) разливали по 9 мл в пробирки с соблюдением правил стерильности. Затем, в первую пробирку с 9 мл раствора вносили 1 мл анализируемой воды. При этом наконечник не должен быть опущен ниже поверхности воды, чтобы избежать смывание бактерий с наружной стороны. Другой стерильной пипеткой или дозатором тщательно перемешивали содержимое пробирки, отбирали из нее 1 мл и переносили в чашку Петри, что соответствовало посеву 0,1 мл анализируемой воды. Другой стерильной пипеткой делали посев 1 мл из второй пробирки, что соответствовало посеву 0,01 мл анализируемой воды. В случаях высокого уровня загрязнения воды разбавление продолжали аналогично, каждый раз меняя пипетку или наконечник. Время от момента приготовления разведения и заливки питательным агаром не должно превышать 30 минут. Микробиологическую чистоту воды определяли при помощи фуксин-сульфитной среды Эндо. Пробы, которые дали положительный результат далее исследовали при помощи лактозной питательной среды для подтверждения способности ферментировать лактозу до кислоты и газа [1].

В ходе исследований учитывались следующие показатели: количество проведенных исследований, положительные исследования, количество проб, положительные пробы.

Количество проведенных исследований – исследования, проведенные со всеми поступившими образцами. Количество проб – исследования, проведенные на подозрительных и положительных образцах, выявленных отбором из общих исследований, проведенных на всех поступивших образцах. Положительные исследования – количество исследований от общего количества, давшие положительную реакцию (наличие колоний на среде Эндо). Положительные пробы – количество исследований, из числа положительных, давшие положительный результат при ферментации лактозы до кислоты и газа. Кроме того, был произведён расчёт удельного веса (процента) положительных ис-

следований и проб от общего количества, соответственно. Полученные экспериментальные результаты статистически обработаны и в статье представлены в виде цифр, таблиц и графика.

Результаты. Результаты исследования представлены в таблицах 1 и 2 и на рисунке.

Таблица 1. – Микробиологическое состояние водоёмов города Гомеля и Гомельского района в период с 2013 по 2016 год

Показатель/год	2013 год	2014 год	2015 год	2016 год
Количество исследований, шт.	1141	1082	935	762
Количество положительных исследований, шт.	277	183	185	167
Удельный вес положительных исследований, %	24,3	16,9	19,8	21,9
Количество проб, шт.	471	325	352	231
Количество положительных проб, шт.	179	111	131	103
Удельный вес положительных проб, %	38	34,2	37,2	47,2

Таблица 2. – Микробиологическое состояние сточных вод города Гомеля и Гомельского района в период с 2013 по 2016 год

Показатель/год	2013 год	2014 год	2015 год	2016 год
Количество исследований, шт.	294	418	519	418
Количество положительных исследований, шт.	79	88	81	79
Удельный вес положительных исследований, %	43,4	21,1	15,6	18,9
Количество проб, шт.	170	182	220	193
Количество положительных проб, шт.	44	54	52	49
Удельный вес положительных проб, %	25,9	29,7	23,6	25,4

Количество отбираемых проб воды из водоемов для микробиологических исследований с годами уменьшается, в 2014 г. наблюдалось уменьшение количества положительных проб, которые содержали условно патогенную кишечную микрофлору. Однако с 2015 года удельный вес положительных проб увеличивался каждый год на 10%. Причины, по которым наблюдается это увеличение, могут быть разными: климатические условия (увеличение температуры воды способствует усилению размножения микробиоты), усиление антропогенного воздействия на открытые источники воды и др. В связи с этим

забор проб сточных вод по сравнению с 2013 г. увеличился. В 2015 г., когда наблюдался всплеск микробиоты в водоемах, а в сточных водах количество условно патогенной микрофлоры было снижено.

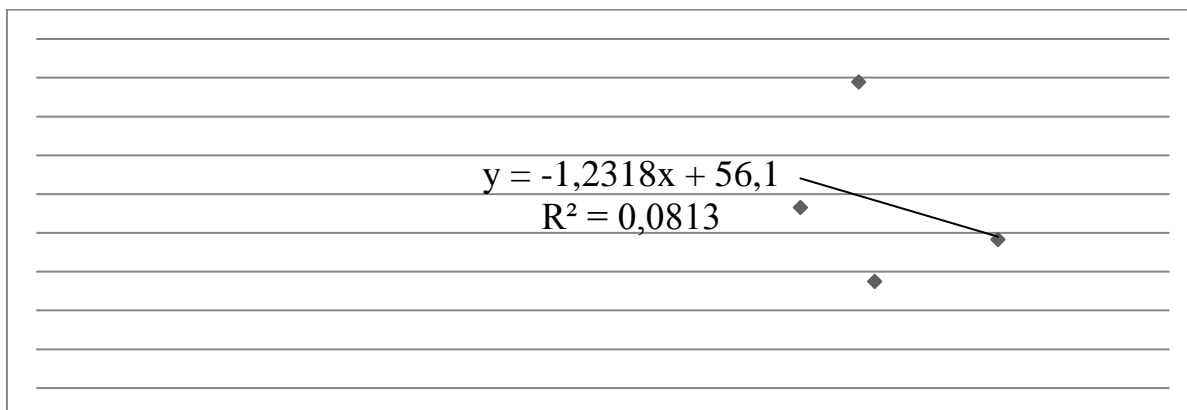


Рисунок. – Корреляционная зависимость между удельным весом положительных проб воды водоёмов и сточных вод города Гомеля и Гомельского района в период с 2013 по 2016 год

Корреляционная связь между выборками описывается линейной функцией Пирсона: $y = -1,2318x + 56,1$. Парный коэффициент корреляции между двумя выборками имеет среднее значение $r = -0,29$ (низкая степень зависимости, зависимость обратная).

Выводы. В ходе проведенного исследования установлено, что наблюдается низкая обратная корреляционная зависимость между парами показателей: удельный вес положительных проб сточных вод – удельный вес положительных проб водоёмов (чем больше удельный вес положительных проб сточных вод, тем меньше удельный вес положительных проб водоёмов).

Данное обстоятельство может быть объяснено несколькими предполагаемыми причинами:

- наличие в сточных водах бактериофагов, специфичных к микроорганизмам водоёмов;
- большое количество антибиотиков в сточных водах;
- содержание в сточных водах микроорганизмов, конкурирующих с микроорганизмами в водоёмах;
- снижение в сточных водах количества веществ, благоприятно влияющих на развитие микроорганизмов в водоёмах;
- снижение объема сточных вод.

Литература

1. Санитарно-бактериологический, санитарно-вирусологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов [Текст] : инструкция по применению / Т. И. Сероокая [и др.] ; Респ. центр гигиены, эпидемиологии и общ. здоровья [и др.]. – Минск, 2009. – 51 с.

ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Добродей М.А.*, Зинчук В.В.**, Ильина И.И.*

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

*Кафедра пропедевтики внутренних болезней

**Кафедра нормальной физиологии

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из основных проблем в терапевтической практике, что связано с большой распространенностью этого заболевания, сниженной трудоспособностью пациентов и высокой смертностью. При ХОБЛ наблюдается прогрессирующая обструкция бронхиального дерева, которая обратима лишь частично. В стенке бронхов под влиянием вдыхаемых газов, вредных частиц, рецидивирующих инфекций респираторного тракта возникает воспаление, сопровождающееся гиперплазией слизеобразующих элементов, нарушением реологии бронхиального секрета, а в легочной ткани эластолитической деструкцией.

Ограничение скорости воздушного потока обычно прогрессирует и связано с выраженностью воспалительного процесса. Среди факторов риска развития ХОБЛ является и курение. Причем, чем выше индекс курения, тем выше риск развития ХОБЛ.

Однако частые обострения ХОБЛ в большей степени связаны с вирусами и хронической колонизацией дыхательных путей бактериями, что наблюдается при повреждении защитных легочных механизмов, указанных выше.

При высокой колонизации дыхательных путей бактериями у пациентов появляется увеличение мокроты, усиление её «гнойности», усиление одышки. Эти три критерия являются показанием к назначению антибактериальной терапии [3].

При эмпирическом выборе антибиотиков, надо помнить, что, согласно статистике, наиболее частыми патогенами обострения являются *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. catarrhalis*, которые выявляются у около 60% пациентов.

Нами ранее было показано, что при ХОБЛ изменяются показатели кислородтранспортной функции крови (КТФК), которые после комплексного лечения пациентов улучшаются [2].

Целью исследования явилось изучение влияния цефтриаксона и левофлоксацина на показатели КТФК у пациентов ХОБЛ.

Обследовано 17 пациентов ХОБЛ и 11 здоровых лиц. Возраст пациентов составил $64,3 \pm 2,7$ лет. Большинство пациентов мужчины (12 человек). Пациенты мужского пола и одна женщина были курящими. Давность заболевания ХОБЛ составила более 10 лет. Пациенты с тяжелым течением ХОБЛ и с дыхательной недостаточностью выше II ст. не включались в исследование.

Диагноз ХОБЛ был верифицирован клинически, анамнестически и с помощью дополнительных методов исследования (согласно клинического протокола). Классификация ХОБЛ проводилась по рекомендациям GOLD (2014) [1]. В основе определения тяжести течения заболевания использовался спирографический метод и основной показатель – объем форсированного выдоха за 1 секунду ($ОФВ_1$).

Помимо общепринятых методов исследования у пациентов при поступлении в стационар и при выписке в венозной крови определяли показатели КТФК: напряжение кислорода (PvO_2), напряжение углекислого газа ($PvCO_2$), рН крови, содержание кислорода (SvO_2), кислородную емкость (КЕ), содержание оксигемоглобина (SvO_2) и показатель сродства гемоглобина к кислороду – P_{50} стандартное и при рН крови (реальное).

Пациенты были разделены на 2 группы: первая (10 человек) в лечении которых превалировали антибактериальные препараты: цефтриаксон по 1 г 2 раза в сутки внутримышечно или левофлоксацин (в зависимости от чувствительности микрофлоры мокроты) в дозе 500 мг 1 раз в сутки внутривенно. Вторую группу составили пациенты (7 человек) в лечение которых антибактериальные препараты не входили, т. к. признаков инфекции не наблюдалось (мокрота была светлая), они лечились согласно клинического протокола без антибиотиков.

При поступлении в стационар у всех пациентов ХОБЛ наблюдалось снижение SvO_2 , PvO_2 ($p < 0,05$, $p < 0,05$) и увеличение P_{50} реальн. и P_{50} станд. ($28,3 \pm 0,34$ и $27,08 \pm 0,48$ мм рт. ст.) по сравнению со здоровыми лицами ($26,5 \pm 0,28$ и $26,8 \pm 0,36$ мм рт. ст.) $p < 0,05$, что указывает на адекватную реакцию в ответ на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности функции внешнего дыхания при ХОБЛ. О наличии последней говорят параметры спирометрии ($ОФВ_1$ – $53,3 \pm 1,23$) и соответствующая клиническая картина обследуемых (одышка, кашель, мокрота). Известно, что увеличение P_{50} на 1 мм рт. ст. повышает артериовенозную разницу PO_2 на 3,2 мм рт. ст., что увеличивает оксигенацию тканей. Это важно в условиях гипоксии, наблюдаемой у этих пациентов.

После лечения в целом по группе наблюдалось увеличение P_{50} реальн. ($29,4 \pm 0,33$ мм рт. ст.) и станд. ($29,7 \pm 0,45$), $p < 0,05$. При этом

увеличились показатели PO_2 , SvO_2 ($p < 0,05$). Однако в первой группе, когда в лечении пациентов использовались в основном антибактериальные препараты, увеличение P_{50} реалн. и P_{50} станд., по сравнению с P_{50} станд. и P_{50} реалн. до лечения было менее значительным и недостоверным ($28,6 \pm 0,62$ и $27,9 \pm 0,38$ мм рт. ст), $p > 0,05$.

Вероятно увеличение P_{50} реалн. и станд. в целом в группе обследуемых пациентов, а значит, и улучшение деоксигенации гемоглобина связано в большей степени с другими препаратами входящими в лечение ХОБЛ согласно клинического протокола (β_2 -агонисты, антихолинергические препараты, ингаляционные глюкокортикостероиды, метилксантины, муколитики, ингибиторы фосфодиэстеразы).

Выводы:

1. У пациентов ХОБЛ в результате проводимой терапии, согласно клинического протокола лечения, отмечается снижение сродства гемоглобина кислорода, что позволяет улучшить оксигенацию крови и уменьшить гипоксию в тканях, наблюдающуюся при ХОБЛ.

2. Антибактериальная терапия цефалоспарином III поколения – цефатоксимом и респираторным фторхинолоном – левофлоксацином, по сравнению с другими препаратами, входящими в клинический протокол лечения этих пациентов в меньшей степени оказывает влияние на показатели кислородтранспортной функции крови, что важно учитывать в клинической практике.

Литература

1. Глобальная стратегия: диагностика, лечение и профилактика ХОБЛ // Доклад рабочей группы Национального Института сердца, легких и крови и Всемирной организации Здравоохранения. – 2014.

2. Добродей М.А., Зинчук В.В., Глуткина М.В., Шейфер Ю.А. Кислородтранспортная функция крови, уровень газотрансмиттеров и прооксидантно-антиоксидантное состояние при ХОБЛ // Журнал ГрГМУ. – 2016 – № 2. – С. 92-97.

3. Anthonisen N.R. Bacteria and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease // N.Engl.y. Med. – 2002. – Vol. 347. – P. 526-527.

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ В ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШКАХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ТРИТАРГА И ВИТАМИНА В₆

**Жмакин А.И., Павлюковец А.Ю.,
Смирнов В.Ю., Шейбак В.М.**

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра биологической химии
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Слизистая оболочка кишечника находится в постоянном взаимодействии с огромным количеством микроорганизмов и биологически активных соединений. Лимфоидная ткань кишечника (пейеровы бляшки, аппендикс, регионарные лимфоузлы, собственная пластинка (*lamina propria*), эпителиальные клетки слизистой оболочки кишечника и интраэпителиальные лимфоциты) играет ключевую роль в развитии системного иммунного ответа организма. Структуры иммунной системы желудочно-кишечного тракта интегрированы в общую иммунную систему организма, в том числе вследствие способности иммуноцитов к миграции. Лимфоциты, праймированные антигеном в пейеровых бляшках, рекрутируются в регионарные лимфатические узлы, затем в грудной проток и вновь возвращаются в собственную пластинку, где осуществляется эффекторная стадия иммунного ответа (синтез антител и цитокинов). Продукция провоспалительных цитокинов в этих клетках запускает реакции со стороны других структур иммунной системы [1].

В настоящее время отдельные аминокислоты и их комбинации широко используются не только с заместительной целью, но и для целенаправленной метаболической коррекции. Регуляторные эффекты, вызываемые отдельными аминокислотами или их сочетанием, на уровне отдельных тканей и органов приводят к изменению общего содержания свободных аминокислот и их производных в плазме крови, что влияет на метаболизм организма в целом. Это проявляется изменением скорости экспрессии отдельных генов и трансляции белков, воздействием на конкурирующий транспорт соединений различного типа, физико-химические свойства мембран и т. д. [2]. Воздействие отдельных аминокислот на клетки иммунной системы (иммуномодуляторы) характеризуется изменением профиля секретируемых цитокинов, хемокинов и молекул клеточной адгезии. Выброс этих соединений в циркуляцию вызывает системные эффекты, которые, в зависимости от физиологической (патофизиологической) ситуации носят противовоспалительный или воспалительный характер.

Лимитирующим кофактором метаболизма аминокислот часто является тканевой дефицит коферментной формы витамина В₆ (пиридоксальфосфат). В качестве кофермента фосфопиридоксаль необходим для оптимальной активности аминотрансфераз, декарбоксилаз аминокислот, ферментов транссульфирования цистатионинсинтазы и цистатионинлиазы, ферментов кинуренинового пути метаболизма триптофана – кинурениназы и кинуренинтрансферазы. Таким образом, с участием витамина В₆ происходят реакции не-протеиногенного превращения аминокислот, приводящие к образованию широкого спектра соединений, во многом обеспечивающие регуляторно-метаболические эффекты экзогенно вводимых отдельных аминокислот и их смесей [3].

Представляется целесообразным изучение эффектов отдельных аминокислот или их композиций начинать с анализа изменений, происходящих в отдельных субпопуляциях клеток желудочно-кишечного тракта. Среди огромного массива клеток выделяются скопления лимфоидной ткани (пейеровы бляшки), которые инициируют эффекты иммунной системы на компоненты пищи.

Целью работы явился анализ влияния аминокислотно-микроэлементной композиции «тритарг» (аргинин, таурин, триптофан и цинка аспартат) и пиридоксинфосфата на свободные аминокислоты и их азотсодержащие метаболиты в пейеровых бляшках.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 30 белых-беспородных крысах массой 120-140 г. Животные были разделены на 4 группы: 1 – контрольная группа получала эквивалентное количество физиологического раствора, 2, 3, 4 – животные получали внутрижелудочно аминокислотно-микроэлементную композицию (аргинин, таурин, триптофан и цинка аспартат) в дозе 500 мг/кг массы +5мг/кг массы пиридоксинфосфата (тритарг В), в обоих экспериментах. Животных декапитировали через 1 ч, 3 ч после однократного и через 24 ч после 10-кратного введения композиций. Определение свободных аминокислот в пейеровых бляшках производили методом обращенно-фазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Определение ароматических аминокислот (тирозина и триптофана) проводили методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм – для триптофана). Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты. Однократное внутрижелудочное введение аминокислотной композиции тритарг В в пейеровых бляшках через 1 ч увеличивало уровни аспартата (с 2581 ± 117 до 3220 ± 102 нмоль/г), глутамата (с 4452 ± 123 до 4942 ± 108 нмоль/г), тирозина (с 232 ± 11 до 345 ± 23 нмоль/г), γ -аминомасляной кислоты (с 281 ± 18 до 463 ± 31 нмоль/г) и орнитина (с 85 ± 5 до 104 ± 3 нмоль/г), одновременно снижало концентрации аспарагина (с 703 ± 38 до 575 ± 22 нмоль/г), серина (с 1042 ± 48 до 901 ± 24 нмоль/г), гистидина (с 189 ± 11 до 111 ± 15 нмоль/г), аланина (с 2996 ± 113 до 2578 ± 62 нмоль/г), валина (с 562 ± 34 до 470 ± 22 нмоль/г), лизина (с 495 ± 31 до 390 ± 27 нмоль/г), β -аминомасляной кислоты (с $52,5 \pm 3,16$ до $31,9 \pm 2,58$ нмоль/г).

Через 3ч после однократного введения тритарга В повышались концентрации аспартата (с 2581 ± 117 до 3181 ± 92 нмоль/г), фосфоэтаноламина (с 1592 ± 101 до 2019 ± 73 нмоль/г), треонина (с 1151 ± 98 до 1477 ± 87 нмоль/г), снижались уровни аспарагина (с 703 ± 38 до 565 ± 26 нмоль/г), серина (с 1042 ± 48 до 898 ± 26 нмоль/г), глутамина (с 1015 ± 52 до 762 ± 26 нмоль/г), этаноламина (с 249 ± 13 до 202 ± 15 нмоль/г), цистатионина (с 162 ± 10 до 109 ± 7 нмоль/г), β -аланина (с $52,45 \pm 3,16$ до $31,69 \pm 3,40$ нмоль/г).

Изменения содержания свободных аминокислот в пейеровых бляшках, вероятно, обусловлены стимуляцией синтеза белка (цитокиннов), а также о повышенной потребностью клеток в энергетических субстратах (особенно глутамине).

Курсовое введение тритарга В привело в пейеровых бляшках к повышению уровня орнитина (с 85 ± 5 до 114 ± 12 нмоль/г), γ -аминомасляной кислоты (с 281 ± 18 до 380 ± 19 нмоль/г), к снижению концентрации этаноламина (с 249 ± 13 до 188 ± 19 нмоль/г).

Следует отметить, что во все изучаемые сроки вводимые в составе композиции аминокислоты аргинин, таурин, триптофан не изменялись.

Выводы. Таким образом, несмотря на то, что как однократное, так и курсовое внутрижелудочное введение тритарга В не изменяет аминокислотный баланс в пейеровых бляшках, наблюдается стимуляция энергетического обмена (увеличение аминокислот-предшественников метаболитов цикла Кребса), наработка полиаминов (предшественник – орнитин) и падение концентраций аминокислот, аминокислотная группа которых используется в биосинтезе азотистых оснований (аспарагин, глутамин).

Литература

1. Brandtzaeg, P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. / P. Brandtzaeg // Scand J Immunol. – 2009. – Vol. 70. – P. 505-515.
2. Hulmi, J.J. Effect of protein/essential amino acids and resistance train-

ing on skeletal muscle hypertrophy: A case for whey protein. / Hulmi J.J., Lockwood C.M., Stout J.R. // Nutr Metab (Lond). – 2010. – Vol. 7. – P. 51.

3. Leuendorf J.E. Vitamin B6: A Long Known Compound of Surprising Complexity / Leuendorf J.E., Hendrickson C., Hellmann H. // Molecules. – 2009. – Vol. 14. – P. 329-351.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Козлова А.И., Тапальский Д.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. *Klebsiella pneumoniae* является одним из основных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В настоящее время известны две эволюционные ветви клебсиелл: классические *Klebsiella pneumoniae* (сКР – classical *K. pneumoniae*) и гипервирулентные *Klebsiella pneumoniae* (hvКР – hypervirulent *K. pneumoniae*). Группа сКР характеризуется быстрым накоплением различных детерминант устойчивости к антибиотикам. Большинство классических полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*, выделяемых от госпитализированных пациентов, являются продуцентами β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и/или карбапенемаз в комбинации с резистентностью к фторхинолонам и аминогликозидам. Группа hvКР обладает обширным набором факторов вирулентности. Характерным признаком большинства штаммов hvКР является гипермукоидность, выявляемая с помощью string-теста [1]. Изучение биологических свойств hvКР установило их способность продуцировать капсульный полисахарид (КПС), принадлежность к K1, K2, K5, K20, K54 и K57 серотипам, наличие генов вирулентности (*gmpA*, *magA*, *uge2*, *fimH*, *allS*, *kfu*, *wabG*, *iucA*, *iroN*, *terB* и других), а также большую устойчивость к бактерицидной активности комплемента и нейтрофилов. Антибиотикорезистентность большинства гипервирулентных *K. pneumoniae* остается на низком уровне, однако в настоящее время в мире уже описаны единичные штаммы hvКР, обладающие повышенным уровнем резистентности к антибиотикам (БЛРС- или карбапенемаза-продуцирующие штаммы), что может представлять серьезную угрозу для общества [2].

Цель. Сравнение биологических свойств классических и гипервирулентных клинических изолятов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 153 клинических изолята *K. pneumoniae*, выделенных в 2013-2017 гг. от

госпитализированных и амбулаторных пациентов в трех регионах Беларуси (Гомель, Минск, Могилев). Идентификация микроорганизмов осуществлялась на микробиологических анализаторах VITEK 2 Compact или на основе MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Чувствительность к семи антибактериальным препаратам (амокси-циллину-клавуланату, азтреонаму, цефотаксиму, имипенему, меропенему, ципрофлоксацину, амикацину) определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона. При выполнении исследования, учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST v.6.0.

Для изолятов *K. pneumoniae* с выявленной диско-диффузионным методом нечувствительностью (устойчивостью или умеренной устойчивостью) хотя бы к одному из карбапенемов методом ПЦР в реальном времени осуществлялась детекция генов карбапенемаз KPC, OXA-48 (диагностический набор «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL», ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация) и MBL групп VIM, IMP, NDM (диагностический набор «АмплиСенс MDR MBL-FL», ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация). Экстракцию ДНК бактериальных культур, амплификацию с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия), анализ и интерпретацию полученных результатов выполняли в соответствии с инструкциями производителя диагностических наборов.

Гипермукоидный фенотип штаммов определяли при постановке string-теста с использованием суточной культуры, выращенной на коммерческом кровяном агаре с 5% бараньих эритроцитов. Тест считали положительным, если за бактериологической петлей тянулся слизистый тяж высотой более 5 мм от поверхности питательной среды.

Для изучения устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови смешивали бактериальную суспензию с оптической плотностью 0,5 по МакФарланду, предварительно разведенную изотоническим раствором хлорида натрия в 100 раз, с человеческой сывороткой, полученной от нескольких здоровых доноров, в соотношении 1:3. Дважды (непосредственно после взаимодействия с сывороткой и через 2 часа инкубации при 37°C) проводился количественный высеv 100 мкл полученной смеси на 90-мм чашки Петри с питательным агаром (HiMedia, Индия) для определения концентрации жизнеспособных бактериальных клеток. Серорезистентность культур представляли как соотношение концентрации микробных клеток после 2-часовой инкубации к их стартовой концентрации в смеси, выраженное в процентах.

Интенсивность образования микробных биопленок сКР и hvКР изолятами оценивали в 96-луночных полистироловых планшетах в соответствии с методикой Stepanovic [3]. В качестве бульонной питательной среды использовали бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (BD, США), тестирование проводили в объеме 100 мкл. Измерение оптической плотности полученных спиртовых экстрактов кристаллического фиолетового выполняли на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite M200 (TECAN) при длине волны 540 нм. Исследование выполняли в трех повторах.

Результаты. Из 153 изолятов *K. pneumoniae* гипермукоидный фенотип (положительный результат string-теста) выявлен у 20 изолятов (13,1%). Штаммы с гипермукоидным фенотипом обладали меньшей резистентностью к антибиотикам и были нечувствительными к $3,35 \pm 0,58$ из 7 антибиотиков, включенных в исследование, штаммы с классическим фенотипом были устойчивы к $4,98 \pm 0,18$ антибиотикам, $p=0,0006$.

Всего обнаружено 20 продуцентов карбапенемаз (NDM – 14 изолятов, OXA-48 – 6 изолятов). Только один изолят *K. pneumoniae* с выявленной продукцией карбапенемаз (карбапенемаза OXA-48) относился к гипермукоидному фенотипу, таким образом частота карбапенемрезистентности, связанная с продукцией карбапенемаз, была значительно выше у штаммов из группы сКР (14,3%) по сравнению с группой hvКР (5,0%, $p<0,05$).

Для исключения влияния на результаты исследования различий в антибиотикорезистентности штаммов из сравниваемых групп была сформирована контрольная группа из 30 сКР-штаммов, имеющих сходные с опытной группой (20 гипермукоидных штаммов) профили антибиотикорезистентности (нечувствительность к $3,53 \pm 0,20$ антибиотикам).

Известно, что гипермукоидность штаммов тесно взаимосвязана с синтезом капсульных полисахаридов, которые обеспечивают большую устойчивость бактериальных патогенов к антимикробным сывороточным факторам, таким, как фагоцитарная активность и комплементзависимый лизис. В нашем исследовании отмечена большая резистентность к человеческой сыворотке у гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae* ($45,7 \pm 6,1\%$) в сравнении с немуккоидными ($25,8 \pm 2,9\%$, $p=0,0063$).

Штаммы *K. pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом обладали более выраженной способностью к формированию микробных биопленок по сравнению с немуккоидными штаммами (OD_{540} соответственно $0,455 \pm 0,066$ и $0,256 \pm 0,024$; $p=0,0094$).

Выводы. Подавляющее большинство гипермукоидных штаммов обладали низким уровнем резистентности к антибиотикам, повышен-

ной устойчивостью к действию сыворотки крови и повышенной биопленкообразующей способностью в сравнении с немуккоидными штаммами, что в целом согласуется с литературными данными. Заслуживает отдельного внимания обнаружение одного гипермукоидного штамма *K. pneumoniae*, сочетающего в себе признаки гипервирулентности и экстремальной антибиотикорезистентности (устойчивость ко всем тестируемым антибиотикам, продукция карбапенемазы ОХА-48). Направлением дальнейших исследований будет поиск генетических маркеров высокой вирулентности у штаммов *K. pneumoniae* с выявленным гипермукоидным фенотипом.

Литература

1. Bialek-Davenet S., Criscuolo A., Ailloud F. et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(11): 1812-1820.
2. Turton J.F., Perry C., Elgohari S., Hampton C.V. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59: 541-547.
3. Stepanovic S., Vukovic D., Hola V. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007; 115(8): 891-899.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ БИОПЛЁНОЧНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТАХ

Лагун Л.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. Одним из факторов патогенности микроорганизмов является образование биопленок. С их образования также начинается развитие любой инфекции, в том числе и инфекции мочевыделительной системы, в частности пиелонефрита [1, 2]. Для практической медицины особенно важно, что бактерии в биопленках обладают повышенной выживаемостью в присутствии факторов иммунной защиты макроорганизма и антибактериальных препаратов [3]. Таким образом, существование биопленок при инфекциях требует совершенно новых подходов к их диагностике и лечению, в том числе исследование антибиотикорезистентности биопленочных бактерий и изучение причин устойчивости бактерий к антибиотикам в биопленках.

Цель. Изучить антибиотикорезистентность биопленочных бактерий, выделенных при пиелонефритах.

Материалы и методы исследования. В исследование включено 135 клинических изолятов (69 – *E. coli*, 56 – *P. aeruginosa*, 10 – *K. pneumoniae*), выделенных из мочи пациентов с острым и хроническим пиелонефритом. Все пациенты находились на стационарном лечении в урологическом и детском нефрологическом отделениях Гомельской областной клинической больницы.

Определение чувствительности исследуемых штаммов бактерий к антибиотикам проводили методом серийных разведений в агаре. Контроль качества определения антибиотикочувствительности проводился с использованием контрольных штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853. Для количественного учета интенсивности пленкообразования из суточных культур готовили суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд, вносили в пробирки эппендорф с бульоном. После инкубации культуру удаляли, вносили в них по 1 мл 1% раствора генцианвиолета (ГЦВ). Удалив раствор ГЦВ из эппендорфов, для экстракции краски из биопленки вносили по 1 мл 96% этанола. Далее готовили контрольные образцы (спиртовые растворы ГЦВ с концентрацией 2, 10, 25 и 50 мг/л). Контрольные и опытные образцы вносили в лунки 96-луночного планшета; измерение концентраций ГЦВ проводили на иммуноферментном анализаторе АИФ-М/340, длина волны 570 нм.

Результаты. Проводя количественную оценку интенсивности формирования биопленок уропатогенами выявили, что все клинические изоляты *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* обладали выраженной способностью к образованию биопленок. Для изолятов *E. coli* концентрации кристаллического фиолетового в отмывочных растворах находились в диапазоне 3,35-17,11 мг/л, *K. pneumoniae* – 4,45-18,79 мг/л, *P. aeruginosa* – 3,36-56,0 мг/л.

На основе данных пленкообразующей активности возбудителей пиелонефритов определены средние значения ($M \pm m$) массы красителя для исследуемых микроорганизмов: *E. coli* – $6,50 \pm 0,34$, *K. pneumoniae* – $9,49 \pm 1,5$, *P. aeruginosa* – $18,25 \pm 1,15$. Выявлены ряд штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с максимальной и минимальной биопленкообразующей способностью. У исследуемых штаммов проанализировали профили антибиотикорезистентности для выявления взаимосвязи между способностью штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* к пленкообразованию и антибиотикорезистентностью (табл. 1-2).

Штаммы *E. coli*, *P. aeruginosa* с максимальной биопленкообразующей способностью обладают сочетанной устойчивостью ко многим, чаще 6-7 антибиотикам. В отношении штаммов *K. pneumoniae* с максимальной пленкообразующей способностью антибактериальные

препараты более активны – профили резистентности имели место только к 4 антибиотикам.

Таблица 1. – Профили антибиотикорезистентности штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с максимальной биопленкообразующей способностью

<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*
17,11	ASCFGP	18,79	ACFG	56,0	ZFGPIR
16,16	ACZFGP	14,13	AKCG	38,83	ZFGMPI
13,21	AKCZG	13,65	ASZP	34,95	ZGPIR
11,38	ACZG			29,58	ZFGM-
				27,81	ZFGMPI

Примечание – * Буква= резистентный или умеренно устойчивый штамм; А=амоксциллин, К=амоксциллин/ клавуланат, S=ампициллин/ сульбактам, С=цефотаксим, Z=цефтазидим, F=цефепим, G=гентамицин, М=амикацин, Р=ципрофлоксацин, I=имипенем, R=меропенем

Таблица 2. – Профили антибиотикорезистентности штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* с минимальной биопленкообразующей способностью

<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*	Масса красителя, сорбированного биопленкой, мкг	Профиль*
3,35	A	4,45	AG	3,36	GMP
3,41	ACG	5,06	AC	3,32	ZFG
3,42	AG	5,20	A	5,40	GP
3,49	ACZ			7,19	ZGPI
3,53	AZ				
3,73	AKCG				
3,81	-				
3,87	-				
4,07	P				
4,10	ACZ				

Примечание – * Буква= резистентный или умеренно устойчивый штамм; А=амоксциллин, К=амоксциллин/ клавуланат, С=цефотаксим, Z=цефтазидим, F=цефепим, G=гентамицин, М=амикацин, Р=ципрофлоксацин, I=имипенем

Клинические изоляты *E. coli* с минимальной биопленкообразующей способностью зачастую устойчивы к 1-3 антибиотикам, реже – к 4 препаратам; в некоторых случаях такие штаммы *E. coli* не имели устойчивости к антибактериальным препаратам. В отношении же штаммов *K. pneumoniae* с минимальной биопленкообразующей

способностью отмечена устойчивость к 1-2 антибиотикам, *P. aeruginosa* – к 2-4 антибиотикам.

Выводы. Установлено, что *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* с максимальной пленкообразующей активностью более устойчивы к антибиотикам, чем штаммы с минимальной способностью формировать биопленки. Таким образом, способность к формированию биопленки обеспечивает возбудителям пиелонефритов повышение устойчивости к антибиотикам, требует пересмотра принципов терапии хронических инфекций мочевыделительной системы с внедрением методов, направленных на предотвращение формирования или разрушение уже сформированной биопленки.

Литература

1. Update on biofilm infections in the urinary tract / P. Tenke [et al.] // World Journal of Urology. – 2012. – Vol. 30. – P. 51-57.

2. Hatt, J.K. Role of bacterial biofilms in urinary tract infections / J.K. Hatt, P.N. Rather // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2008. – Vol. 322. – P. 163-192.

3. Чеботарь, И.В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь, А.Н. Маянский и др. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51-58.

ПРИМЕНЕНИЕ 3D-СКАНИРУЮЩЕЙ ЛАЗЕРНОЙ РАМАНОВСКОЙ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Медведь А.В.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Беларусь
Кафедра материаловедения и ресурсосберегающих технологий

Актуальность. В последние годы конфокальный лазерный сканирующий микроскоп (LSM) стал широко признанным исследовательским инструментом.

LSM применяется в биологии и медицине преимущественно с использованием флуоресцентных методов. Другая важная область применения – материаловедение, где особенно часто строится изображение с высоким контрастом и пространственным разрешением в отраженном лазерном свете. Четкие конфокальные изображения обеспечивают эффективный путь обнаружения дефектов в полупроводниковых материалах [1].

В обычной микроскопии получение изображения объекта происходит одновременно для всех точек образца. В противоположность

этому в конфокальном микроскопе образец облучается поточечно и так же поточечно измеряется результат взаимодействия лазерного света с облучаемой поверхностью образца. Для получения информации о всём образце лазерный луч сканируется по образцу с помощью гальванозеркал.

Главной конструктивной особенностью конфокального микроскопа является наличие конфокального отверстия, обычно называемого пинхолом (pinhole), расположенного в плоскости, сопряженной с плоскостью промежуточного изображения, а значит и с плоскостью объекта микроскопа. В результате детектор может регистрировать только тот свет, который проходит через пинхол.

Преимущества конфокального лазерного микроскопа по сравнению с обычным микроскопом очевидны. Это способность собирать рассеянный образцом свет из маленькой исследуемой точки внутри достаточно большого образца. При этом не только значительно возрастает осевое разрешение, но и улучшается поперечное разрешение. Подавляется мешающая флуоресценция и уменьшается рассеянный свет. Все это повышает качество и контраст изображения каждого тонкого оптического слоя и позволяет получить трехмерное изображение, которое содержит информацию о пространственной структуре объекта [2].

Лазерный сканирующий микроскоп со спектрометром «Nanofinder S» – это универсальный комплекс, позволяющий проводить многофункциональный анализ микроструктур в 3-х измерениях. Он отлично сочетает в себе передовые достижения традиционной оптической высокоразрешающей микроскопии и лазерной сканирующей конфокальной спектроскопии. Сердцем комплекса является конфокальный микроскоп, сопряженный со спектральной системой, позволяющей получать трехмерное изображение с пространственным разрешением 200 нм [3].

3D сканирующий конфокальный микроскоп со спектрометром «Nanofinder S» незаменим для исследований в нанобиотехнологиях, при комплексном анализе таких объектов как полупроводники, жидкие кристаллы, оптические световоды, полимеры, фармацевтические и биологические вещества, одиночные молекулы и наночастицы.

Достоинствами системы «Nanofinder S», делающими ее гибкой и способной решать разнообразные задачи, являются: модульная структура комплекса, возможность выбора различных лазеров, использование автоматизированных трехпозиционных узлов для работы с тремя лазерами, быстрое определение пространственного распределения материала с одновременным построением изображения с помощью лазерного / Рамановского конфокального микроскопа и др. [4].

Конфокальная микроскопия комбинационного рассеяния широко используется в фармацевтике. Такая техника позволяет идентифицировать химические компоненты, а также молекулярные конформеры в различных лекарствах. Измерение распределения ингредиентов в таблетке важно для контроля качества технологического процесса, тестирования загрязнений.

Конфокальный микроскоп также незаменим в биологии для детального исследования клетки. Сегодня на эту тему публикуется огромное количество различных научных статей. Чаще всего при помощи конфокальных микроскопов изучают структуру клеток, а также их органоидов. Также исследуется колокализация в клетке для того, чтобы понять есть ли причинно-следственная связь между веществами клетки.

В процессе изучения белков конфокальными микроскопами они предварительно маркируются антителами с разными флуорохромами. С помощью обычного классического микроскопа довольно трудно разобраться расположены ли они рядом либо же один под другим, а вот конфокальный микроскоп позволяет это сделать без особых проблем. В памяти компьютера записываются данные о серии оптических срезов и, таким образом, проводится объемная реконструкция объекта, а также получается его трехмерное изображение.

Также с помощью конфокальных микроскопов исследуют динамические процессы, протекающие в живых клетках, например, передвижение ионов кальция или других веществ сквозь клеточные мембраны. Используют конфокальные микроскопы и для изучения подвижности биоорганических молекул с помощью ионизации фотохимического разложения флуорохрома в зоне облучения, а также последующего его рассоединения с молекулами. Такие молекулы маркируются двумя флуорохромами, обладающими спектром испускания донора, который перекрывается спектром поглощения акцептора. Таким образом, энергия передается от донора к акцептору на небольших расстояниях и в результате резонанса между энергетическими уровнями. После этого акцептор в видимой области спектра излучает энергию, которая впоследствии регистрируется с помощью конфокального микроскопа [5].

Микроскопия комбинационного рассеяния является мощным инструментом для фармацевтических применений. Используя Confotec MR520, возможно изучение распределения аспирина и парацетамола по таблетке с высоким пространственным разрешением.

Конфокальная микроскопия широко используется практически во всех отраслях биологии, от клеточной биологии и генетики до микробиологии и биологии развития. Она также используется в квантовой оптике и нанокристаллической визуализации и спектроскопии.

Литература

1. Егорова, О.В. С микроскопом на «ты». Шаг в XXI век. Световые микроскопы для биологии и медицины. М: «Репроцентр-М», 2006. – С. 13.
2. Ландсберг, Г.С. Оптика. – М.: Наука, 1976. – 928с.
3. Лэйси, А. Световая микроскопия в биологии. Методы. М., Мир, 1992, 464с.
4. Штейн, Г.И. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Методическое пособие. ИНЦ РАН, СПб, 2004. – 32 с.
5. Феофанов, А.В. Спектральная лазерная сканирующая конфокальная микроскопия в биологических исследованиях / А.В. Феофанов// Успехи биологической химии. – 2007. – Т. 47. – С. 371-410.

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А С ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ

Островцова С.А.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Кишечник является естественной средой обитания для порядка 10^{14} клеток микроорганизмов. Это в десять-двадцать раз больше количества клеток организма самого человека [1]. Эпителиальный слой и секреты слизистых оболочек кишечника образуют естественный защитный барьер, а также контролируют состав кишечной микрофлоры. Кроме того, эпителий слизистых способствует поддержанию в норме резидентной микрофлоры и дискриминирует патогенную. Механизмы, с привлечением которых слизистые оболочки кишечника защищают организм от нежелательных патогенов, составляют систему иммунной защиты организма.

Установлено, что около 74% бактерий, входящих в состав микрофлоры кишечника, связываются с секреторным иммуноглобулином А (sIgA). Антитела sIgA участвуют, таким образом, не только в реализации специфического гуморального иммунитета, но и вовлечены в реакции неспецифической резистентности путем гликанопосредованного связывания представителей аутохтонной микрофлоры с поверхностью кишечного эпителия.

В настоящее время для профилактики и лечения дисбактериозов – патологических состояний, которые развиваются в результате качественных и количественных нарушений состава нормальной микрофлоры, в медицинской практике широко применяют пробиотики.

Пробиотики – это препараты живых микроорганизмов (чаще всего бактерий), которые оказывают благоприятное воздействие на

организм человека путем улучшения микробного баланса, стимулируют обменные, иммунные процессы и др. [1]. Введенные в состав пробиотических препаратов микроорганизмы представляют собой штаммы, чаще всего выделенные из организма человека и прошедшие тщательную селекцию с учетом их пробиотической активности. Эти живые представители нормальной микрофлоры человека способны взаимодействовать с сообществом бактерий, например, в кишечнике, выделять активные метаболиты, влияющие на функции иммунной, гормональной и пищеварительной систем организма, стимулировать моторику и экскреторную функции кишечника. Пробиотические препараты могут также содержать бактерии, которые характеризуются как самоэлиминирующиеся антагонисты. К ним относят, в частности, представителей грамположительных палочек рода *Bacillus*. Использование таких бактерий основано на способности ряда штаммов бацилл проявлять антагонистическую активность в отношении многих патогенных и условно – патогенных микроорганизмов, а также регулировать процессы пищеварения.

Однако не все представители нормальной кишечной микрофлоры могут быть использованы для создания препаратов с пробиотической активностью. Для того, чтобы доказать, что тот или иной штамм может стать хорошим пробиотиком, необходимы дополнительные исследования.

Известно, что секреторный иммуноглобулин А, который продуцируется в кишечнике в огромных концентрациях (около 4 мг в сутки), является ведущим фактором специфического гуморального, а также неспецифического иммунитета кишечника. Благодаря своей полимерной природе и поливалентности sIgA защищает слизистые кишечника путем нековалентного связывания аллохтонных микроорганизмов и различных макромолекул. Он способен блокировать микробные адгезины, а также колонизацию патогенными микроорганизмами слизистых кишечника путем связывания патогенов и последующего их удаления из организма [2].

Кроме того, sIgA взаимодействует с представителями нормальной микрофлоры кишечника. Предполагается, что связывание комменсальных бактерий с sIgA способствует узнаванию этих симбионтов эпителиоцитами и дендритными клетками, что приводит к усилению дискриминации патогенов со стороны иммунной системы хозяина [3]. Таким образом, секреторный IgA играет ведущую роль в формировании и поддержании нормального состава кишечной микрофлоры в течение всей жизни каждого индивидуума, начиная с его рождения.

Цель. Изучить способность штаммов пробиотических бактерий кишечной палочки – представителя нормальной микрофлоры кишечника, а также грамположительных палочек – бактерий рода *Bacillus* связываться с секреторным иммуноглобулином А (sIgA).

Материалы и методы исследования. В качестве опытных штаммов были изучены: пробиотический штамм *E. coli* М-17, входящий в состав препарата «Колибактерин» и штамм *B.cereus* IP 5832, являющийся основным компонентом препарата «Бактисубтил» (Санофи-Авентис, Франция).

Лабораторный штамм *E. coli*, который не проявлял пробиотической активности, использовался в качестве контроля.

Для изучения взаимодействия бактерий с секреторным иммуноглобулином А был разработан метод связывания меченых флуоресцентной меткой бактериальных клеток с иммобилизованным на полистирольных планшетах sIgA. Интенсивность свечения фиксировали на детекторе флуоресценции.

С целью изучения роли белковой части sIgA в связывании бактериальных клеток проводилась температурная обработка препарата секреторного иммуноглобулина А при 40°С в течение 20 часов, после чего был выполнен эксперимент по выявлению его связывающей способности.

Результаты. В экспериментах по изучению взаимодействия с sIgA представителей пробиотических штаммов, установлено, что наибольшей связывающей активностью обладали бактерии *E. coli* (штамм М-17), входящие в состав препарата «Колибактерин». Штамм *B. cereus* не проявлял высокой связывающей активности при инкубации его с секреторным IgA. Лабораторный штамм *E. coli* практически не связывался с sIgA.

Термоинактивация секреторного иммуноглобулина А приводила к потере около 50% его связывающей способности при использовании препарата иммуноглобулина в диапазоне концентраций от 0.6 до 5.0 мг/мл.

Выводы. Установлено, что бактерии пробиотического штамма *E. coli*, входящие в состав препарата «Колибактерин», проявляют выраженную способность связываться с секреторным иммуноглобулином А. Наблюдаемый эффект объясняется тем, что кишечные палочки, хотя и не являются доминирующими по количеству в составе кишечной микрофлоры, в норме всегда находятся в кишечнике. У представителей пробиотического штамма *B. cereus* не выявлена выраженная способность к взаимодействию с sIgA. Следует заметить, что это имеет биологический смысл, поскольку бациллы *B. cereus* постоянно

не присутствуют в составе кишечной микрофлоры. Пробиотическая роль препарата *V. cereus* сводится, прежде всего, к созданию благоприятного микроокружения для представителей нормальной кишечной микрофлоры и синтезу биологически активных веществ, а также к улучшению пищеварения, поскольку бактерии *V. cereus* проявляют антагонизм по отношению к гнилостной микрофлоре. Кроме того, ферменты, выделяемые этими бактериями, расщепляют жиры, углеводы и белки, предотвращая развитие процессов гниения в кишечнике.

Значительное снижение связывания секреторного иммуноглобулина А с бактериями после температурной обработки препарата указывает на важную роль конформации этого полимерного иммуноглобулина в реализации его связывающей способности. Установлено также, что увеличение концентрации sIgA стимулирует развитие пробиотических бактерий и тем самым способствует нормализации микробиоценоза кишечника.

Литература

1. Hooper L.V., Littman D.R. and Macpherson A.J. Interactions between the microbiota and the immune system / L.V. Hooper // *Science*, 2012. – N 336. – P. 1268-1273.

2. Phoom, C. and E. M. Nolan. Defensins, Lectins, Mucins and Secretory Immunoglobulin A: Microbe-Binding Biomolecules that Contribute to Mucosal Immunity in the Human Gut/ C. Phoom//*Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2017. – V. 52. – N 1. – P. 45-56.

3. Sansonetti, P.J. To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question/ P.J. Sansonetti// *Mucosal Immunol.*, 2011. – N. 4. – P. 8-14.

МИКРОФЛОРА НЕБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ

Рыбак Н.А., Соколова Т.Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

Актуальность. Хронический тонзиллит (ХТ) несмотря на достижения медицинской науки и практического здравоохранения, занимает одно из лидирующих мест среди заболеваний ротоглотки, на его долю приходится 24,8-35,0% в структуре всей ЛОР-патологии, как у взрослых, так и у детей [1, 3]. Тенденция к росту заболеваемости сохраняется и в настоящее время. ХТ представляет собой хронический процесс в небных миндалинах, проявляющийся стойкой воспалительной

реакцией, а морфологически альтерацией, экссудацией и пролиферацией, обусловленный угнетением неспецифических факторов естественной защиты организма, нарушении гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Основными возбудителями ХТ являются представители патогенной, условно-патогенной микрофлоры, вирусы, грибы. Причиной ХТ может быть аллергическое воспаление, дисбиоз верхних дыхательных путей, которые обеспечивают естественную инволюцию миндалин и способствуют замещению лимфоидной паренхимы соединительной тканью, зачастую способствуя развитию метатонзиллярных осложнений. Ассоциации микробных сообществ, и их способность формировать биопленки являются существенным фактором резистентности, и составляют проблему эффективности терапии [2, 3].

Цель. Изучить состав микрофлоры небных миндалин, биопленочных микроорганизмов, ассоциированных с хроническим тонзиллитом.

Материалы и методы исследования. Всем пациентам с целью исследования были взяты мазки на флору чувствительность к антибиотикам дважды: с поверхности небных миндалин до операции, а затем продублирован второй мазок, из глубоких отделов лакун небных миндалин через дополнительный разрез со стороны капсулы после тонзилэктомии. Вторым этапом изучали состав микроорганизмов в составе микробных биопленках у 13 пациентов хроническим декомпенсированным тонзиллитом. Забор материала проводился трижды: с зевной поверхности небных миндалин, из кусочка биопсийного материала, взятого в устье лакуны, из глубокого отдела лакуны после выполнения тонзилэктомии через дополнительный разрез со стороны капсулы удаленной миндалины. Материал засевался на 5% кровяной агар, маннитно-солевой, желточно-солевой агар, на среду Эндо, для выделения грам-плюс и грам-минус флоры, а для выделения грибов посев осуществляли на среду Сабуро.

Контроль роста микроорганизмов, выделение чистой культуры, проводили по классическим методикам. Идентификацию планктонной флоры и биопленочных микроорганизмов, чувствительность к антибиотикам, определяли на анализаторе VITEK[®] 2. Из общего числа выделенных изолятов для изучения свойств микроорганизмов из биопленок отобраны наиболее часто встречающиеся микроорганизмы: *S. aureus*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudoporcinus*, *S. parasanguinis*, *Rothia dentocariosa*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *K. kristinae*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, из которых в искусственных условиях вновь были воссозданы биопленки, в таких комбинациях, как они находились в естественных условиях, на поверхности и глубине миндалин, включая их

сочетания, которые сохраняли в триптозо-соевом бульоне (TSB) содержащем 15% глицерин. Перед тестированием микроорганизмы кроме дрожжей пересеивали на триптозо-соевый агар с 5% бараньей кровью (TSAB) и инкубировали при 37°C в течение 24 часов, затем пересеивали на бульон Мюллера-Хинтона с добавлением 2% глюкозы. Дрожжи пересеивали на агар Сабуро инкубировали при 35°C в течении 48 часов.

Разработана методика получения биопленок в искусственных условиях с учетом диагностированного пейзажа микроорганизмов (монокультура, микст), выделенных от пациентов с поверхности и глубины миндалин. Для получения биопленок в искусственных условиях готовили рабочую взвесь микроорганизмов. Брали 2 мл 24 часовой культуры бактерий в жидкой питательной среде, вносили в 10 мл свежеприготовленного мясо-пептонного бульона с 2% глюкозой. При необходимости получения бактериальной пленки из различных микроорганизмов, выросшие бульонные культуры смешивали в одинаковых пропорциях, взвесь вносили в стерильные 96-луночные планшеты, помещали в термостат для инкубации. В течение 3-х дней ежедневно промывали лунки фосфатным буферным раствором (рН 7,2-7,4), а затем вносили свежую питательную среду и продолжали инкубировать. Контроль роста биопленок в планшетах осуществляли с помощью медных сеточек покрытых формваровой плёнкой для электронной микроскопии, электронным микроскопом JEM1011 (JEOL, Япония). Полученные биопленки использовали для дальнейшего исследования *in vitro*. Таким образом, было получено 12 вариантов биопленок состоящих из одного, двух и трех видов микроорганизмов.

Результаты. Проанализированы результаты бактериологических посевов из зевной поверхности и глубоких отделов лакун небных миндалин у 102 пациентов с ХТ. В результате были выделены 48 видов различных микроорганизмов, которые были представлены 8 группами: стрептококками, стафилококками, микрококками, энтеробактериями, НФГБ, энтерококками, мезофилами, грибами рода *Candida*.

Из общего числа изолятов, для изучения свойств микроорганизмов из биоплёнок, были отобраны *S. aureus*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudoporcinus*, *S. parasanguinis*, *Rothiadentocariosa*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *K. kristinae*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, из которых в искусственных условиях вновь воссозданы биопленки, в таких комбинациях, как они находились в естественных условиях, на поверхности и глубине миндалин, включая их сочетания. Совпадение выделенных микроорганизмов в составе биоплёнок с поверхности миндалин и из глубины составило 4 случая (31%), частичное совпадение 3 случая (23%), полностью отличались по составу биопленок – в 6 (38%) случаях.

Представлялось важным провести контроль роста 12 вариантов биопленок, состоящих из одного, двух и трех видов микроорганизмов. Визуализация микробных пленок представлена на (рисунках 1, 2) методом электронной микроскопии (микроскоп JEM1011, JEOL, Япония).

На представленных снимках в электронном микроскопе хорошо видны воссозданные биопленки, представленные стафилококками и кандидами (рис.1), а также на электронограмме (2) виден конгломерат в виде стафилококков и клебсиелл адгезированных на поверхности кандиды.

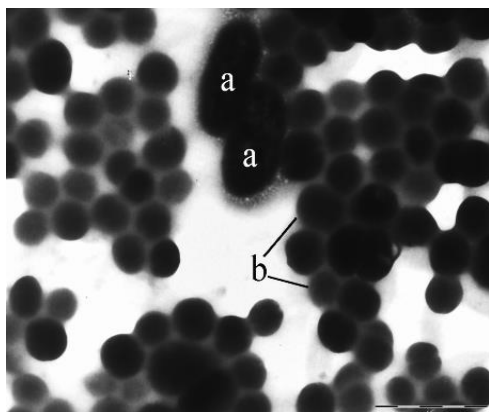


Рисунок 1. – Биоплёнка:
a – грибы рода Candida,
b – стафилококки

Ув. x15000, электронная микроскопия

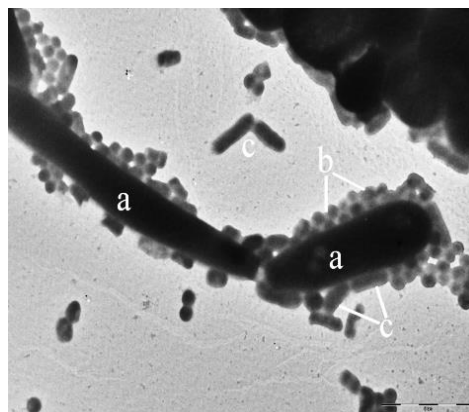


Рисунок 2. – Электронограмма:
a – грибы рода Candida,
b – стафилококки, c – клебсиеллы
Ув. x5000

Выводы:

1. При ХТ микробный пейзаж представлен 8 группами условно-патогенных микроорганизмов, качественный состав которых отличается на поверхности и в глубине миндалин, установлено, что у 85% пациентов обнаружены биопленки, представленные грамположительными кокками, грамотрицательными анаэробами, энтеробактериями и грибами.

2. У пациентов с ХТ выделены биопленки, доказана способность к биопленкообразованию *in vitro*, что подтверждено с помощью электронной микроскопии.

Литература

1. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита / В.М. Цыркунов, Н.А. Рыбак, А.В. Васильев, Р.Ф. Рыбак // Инфекц. болезни. – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 42-47.

2. Роль микрофлоры в этиологии хронического тонзиллита / А.И. Крюков и др. // Вестник оториноларингологии. – 2010. – № 3. – С. 4-6.

3. Чувствительность/резистентность микроорганизмов, выделенных из биопленок, к антибактериальным средствам при хроническом тонзиллите / Н.А. Рыбак, Т.Н. Соколова, В.М. Цыркунов, О.Б. Островская // Клиническая инфектология и паразитология. – 2016. – № 2 (17). – С. 171-182.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Соколова Т.Н.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Туберкулез был и остается основной глобальной проблемой общественного здравоохранения с незапамятных времен. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) это заболевание является одной из 10 ведущих причин смерти в мире. В 2015 г. туберкулезом заболели 10,4 миллиона человек, и 1,8 миллиона человек (в том числе 0,4 миллиона человек с ВИЧ) умерли от этой болезни. Причин для такого стойкого сохранения этого заболевания на планете много, но одной из них является достаточно трудная диагностика этого заболевания. Для предупреждения распространения туберкулеза и его успешного лечения необходимо раннее его выявление. Клинические методы диагностики могут приводить к несвоевременной постановке диагноза и как следствию появлению резистентных штаммов *Mycobacterium tuberculosis* и повышенной смертности. Технический прогресс в области инструментальных методов привел к улучшению диагностики, прежде всего, туберкулеза легких, расширился круг методов доступных для клинической лабораторной диагностики.

Цель. Определить круг доступных методов лабораторной диагностики туберкулеза существующих на современном этапе и оценить достоинства и недостатки их при использовании в диагностике.

Материалы и методы исследования. Для исследования применяемых в настоящее время методов диагностики туберкулеза был проведен обзор современной литературы по данной тематике и осуществлен его анализ.

Результаты. Все методы лабораторной диагностики туберкулеза можно поделить на прямые и косвенные.

К прямым относят способы, позволяющие обнаружить непосредственно микобактерии и продукты их жизнедеятельности. Это прежде всего микроскопия и окрашивание ткани и мокроты. Для окрашивания используют метод по Цилю-Нильсену, который позволяет обнаружить кислотоустойчивые микобактерии. Это простой, дешевый и быстрый способ, однако выявление микроорганизмов возможно, при наличии более 10^6 клеток бактерий в грамме ткани или мокроты, что снижает возможность, диагностировать заболевание в

0-40% случаях [1, 2]. Еще к прямому методу относятся ультрафиолетовая микроскопия мазков центрифугата образцов, окрашенных флуорохромом. Чувствительность такой микроскопии выше на 10% в сравнении с окрашиванием по Цилю-Нильсену, и она также не позволяет обнаруживать устойчивость микобактерий к лекарственным препаратам.

Культуральный метод диагностики микобактерий из клинических образцов является «золотым стандартом» для окончательного диагноза туберкулеза. Он гораздо более чувствительный, поскольку позволяет обнаружить меньшее количество микобактерий 10-100 клеток/мл концентрированного материала. Вместе с тем, культивирование на твердых питательных средах занимает много времени (2-6 недель). Различные модификации культивирования на жидких питательных средах и использование системы ВАСТЕС, сокращают время и результативность диагностики, позволяя на 10% больше обнаружение, чем на твердых средах. Дополнительные технологии с использованием радиометрической и флуоресцентной индикацией роста микобактерий (The Septicheck AFB method) также способствуют раннему их выявлению, и установлению чувствительности к лекарственным препаратам. Тем не менее, высокая стоимость и необходимость безопасной утилизации радиоактивных отходов, исключает использование этих методов в периферийных лабораториях.

Быстрые иммунохроматографические анализы (so-called strip speciation tests) – так называемые полосы видообразование тесты, молекулярные тесты, а также биохимические методы рекомендуются для определения видов в короткий промежуток времени. Однако эти системы не используются автономно, а лишь в сочетании с культивированием микроорганизмов на твердых средах, и поэтому не сильно ускоряют процесс диагностики.

Молекулярно-генетические методы диагностики ДНК бактерий, такие как ПЦР, привели к разработке тестов с высокой положительной прогностической возможностью обнаружения до 98-99% случаев раннего туберкулеза из различных клинических образцов. Преимущества метода амплификации над культуральным, это, прежде всего, высокая чувствительность всего лишь 1-10 микроорганизмов в исследуемом материале, возможность обнаружить в длительно хранимых клинических образцах и обеспечивает этиологическую диагностику в короткий промежуток времени 6-8 часа. Недостатком этого метода является высокая чувствительность к загрязнению образцов другими ДНК, генерируя высокий уровень ложноположительных результатов. Кроме того, не определяется различие между жизнеспособными и мертвыми микроорганизмами.

Еще один метод молекулярно-амплификации является использование бактериофагов. Генетически сконструированный *Mycobacteriophage* был использован для обнаружения жизнеспособных *M. tuberculosis* непосредственно в клинических образцах. PhageTek MB представляет собой недорогой тест, но имеет низкую чувствительность и специфичность.

К прямым методам диагностики туберкулеза можно отнести иммунологические методы обнаружения антигенов микобактерий – иммуногистохимический (ИНС), иммуноцитохимический (ИСС) и иммунофлуоресцентный (ИФ). Эти методы позволяют обнаружить небелковые антигены клеточной стенки микобактерий в различных исследуемых образцах организма, при минимальной их концентрации 3-20 нг/мл. В данном случае необходимо взятие биопсии и предварительная специальная обработка образца. Крупным недостатком этих методов является то, что для биологических жидкостей они мало чувствительны и требуют дальнейшего усовершенствования.

В косвенным методам диагностики туберкулеза относят: гистологический метод обнаружения в тканях специфических клеток Ланханза, цитологическое исследование аспирационной жидкости (*fine needle aspiration cytology* (FNAC)), обнаружение антител в сыворотке крови и клеточные методы диагностики *in vivo* и *in vitro*.

Надо сказать, что современные иммунологические методы для выявления антигенов с использованием моноклональных антител, при использовании на практике показали пока низкую специфичность и в настоящее время не рекомендованы для широкого использования

Клеточные методы диагностики *in vivo* и *in vitro* используются давно и достаточно успешно. К кожно-аллергическим методам относят пробу Манту и диаскин-тест. Проба Манту проводится для обнаружения ГЗТ и через 48-72 ч после введения туберкулина позволяет предположить активный туберкулез, перенесенную инфекцию, вакцинацию БЦЖ, или повышение чувствительности к микобактериям окружающей среде. Первым препаратом, использованным для диагностики, был туберкулин Коха, представляющий собой фильтрат культуры микобактерий туберкулеза. В последние годы широкое применение нашла новая кожно-аллергическая проба – диаскин-тест. Для этого диагностического теста используется аллерген туберкулезный рекомбинантный, который содержит два рекомбинантных белка ESAT-6 и CFP-10, продуцируемых *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT. В то же время, отмечаются низкие показатели специфичности этих методов, возможность появления отрицательных результатов кожной реакции при тяжелом течении и терминальной стадии заболевания [3].

Клеточные методы *in vitro* для диагностики туберкулёза включают в себя прежде всего, получившие широкое распространение, пробы крови (IGRA). Наиболее используемыми из них являются квантифероновый тест и тест T-SPOT. Квантифероновый тест (QuantiFERON-TB Gold In-Tube, QFT-G) основан на применении твердофазного иммуносорбентного анализа для определения уровня интерферона INF- γ , высвобождаемого сенсibilизированными Т-клетками, стимулированными *in vitro* специфическими АГ (чаще ESAT-6 и CFP-10 и TB7.7). Тесты IGRA отличаются высокой специфичностью и относительно высокой. Вместе с тем, такие тесты не позволяют дифференцировать активные и латентные формы туберкулеза, а их высокая стоимость ограничивает применение IGRA в странах с низким и средним уровнем развития.

В настоящее время в качестве потенциальных биомаркеров рассматривают IL-17, хемокин IP-10 и соотношение IFN- γ /TNF- α . Перспективно обнаружение активности аденозин дезаминазы (ADA) – фермента участвующего в дифференцировке клеток иммунной системы в организме человека при взаимодействии с микобактериями. ADA, как представляется, является полезным тестом для ранней диагностики туберкулеза в эндемичных и бедных районах.

Выводы. Все методы специфической диагностики туберкулеза имеют как преимущества, так и недостатки, в связи с чем, данные тесты должны использоваться в зависимости от цели исследования, возраста пациента, наличия у него сопутствующих заболеваний и других факторов риска, а также с учетом их результатов и данных о степени диагностической значимости и чувствительности.

Литература

1. Angeby, K. A., Rapid and inexpensive drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* with a nitrate reductase assay./ Angeby K. A., L. Klintz, S. E. Hoffner J. // Clin. Microbiol. – 2002. –V. 40. – P. 553-555.
2. Aranaz, A. et al. *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov.: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain / A. Aranaz et al. // J. Syst. Bacteriol. – 1999. – V. 49. – P.1263-1273.
3. Starke, J., Interferon- γ Release Assays for Diagnosis of Tuberculosis Infection and Disease in Children // J. Starke. Pediatrics. –2014. – № 6, V. 134 – P. 1763-1773.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ ГЕЛЕЙ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА МИКРОФЛОРУ КОЖИ РУК

Соколова Т.Н., Багрим Е.В., Романович А.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность Личная гигиена является основой здорового образа жизни, главным условием эффективной профилактики разных заболеваний и увеличения продолжительности жизни. При недостаточном уходе за кожей рук на ней возможно скопление микроорганизмов, яиц гельминтов. Загрязненные руки могут быть причиной обсеменения посуды и пищевых продуктов. Гигиена рук – общий термин, используемый для обозначения таких процедур, как обычное мытье рук, гигиеническая дезинфекция рук и хирургическая дезинфекция рук [1, 2]. Существуют два способа гигиенической дезинфекции рук: гигиеническое мытье рук и обработка (протирание) рук антисептиком. Гигиеническое мытье рук – мытье рук с мылом или другим моющим средством, содержащим антисептическое средство. Обработка рук антисептиком – протирание всей поверхности кистей антисептическим средством с целью уменьшения количества микроорганизмов, присутствующих на коже [3]. Сегодня на рынке по гигиеническому уходу за руками появилось большое количество косметических гелей антибактериальными свойствами, реклама которых, убеждает покупателя в эффективности работы данного средства. Однако люди склонны к сомнению и не всегда доверяют рекламе.

Цель. Изучить действие некоторых косметических гелей с антибактериальными свойствами на микрофлору кожи рук.

Материалы и методы исследования. Для исследования были использованы 5 косметических геля для обработки рук с антибактериальными свойствами: гель Cleanberry, Dr. Hand, Dettol, Sterillium, Хлоргель. Согласно данным производителя, представленным на упаковке, они содержат:

– гель Cleanberry в качестве антибактериального компонента – этиловый спирт (67,8% об.), а также для увлажнения и смягчения кожи рук масло карите, глицерин, пропиленгликоль и Д-пантенол (провитамин В₅);

– Dr. Hand – антибактериальное вещество триклозан и не содержит этиловый спирт, в качестве дополнительных компонентов – аллантоин, Д-пантенол, витамин Е и изопропиловый спирт;

– Dettol – этиловый спирт денатурированный 66%, вода, ПЭГ 17/6 кополимер, пропиленгликоль, С 10-30 акрил, акрилат, поперечно сшитый полимер, тетрагидроксипропилэтилендиамин, ароматизатор, денатониумбензоат;

– Sterillium – 2-пропанол 45%, 1-пропанол 30% и четвертично-аммониевое соединение (мецетронийэтилсульфат) 0,20%, спирт миристиловый, глицерин, краситель, ароматизатор и вода до 100%;

– хлоргель – хлоргексидинабиглюконат, вода подготовленная, масло персика, масло мяты, карбомер, тротаноламин, витамин Е.

В проведении эксперимента принимали участие 42 добровольца (студенты). Для роста микроорганизмов и контроля действия гелей на микроорганизмы использовали чашки Петри со стерильным казеиново-соевым агаром (КСА). Для бактериальной нагрузки использовали *E. coli* ATCC 11229. Для испытания были взяты две группы «А» и «В» добровольцев по 21 испытуемому в каждой. В группе «А» кисти рук добровольцев не подвергались микробной нагрузке, группе «Б» проводилась дополнительная обработка пальцев рук суспензией *E. coli* ATCC 11229 ($1,2 \times 10^9$ КОЕ). Исследование проводилось в несколько этапов:

1 группа (контрольная) из группы «А» – пальцы кисти рук первых трех добровольцев без мытья опускали на стерильный пластинчатый казеиново-соевый агар (КСА), затем руки этих же участников мыли под водой без использования мыла, высушивали на воздухе в течение 3 мин и снова делали отпечатки на агар;

2 группа (сравнения) – пальцы кисти рук трех добровольцев без мытья опускали на стерильный КСА, затем руки этих же участников мыли под водой с использованием мыла, высушивали на воздухе в течение 3 мин и снова опускали на стерильный агар;

3 опытная группа 15 участников из группы «А» разделили на 5 подгрупп для испытания каждого антисептика. Первоначально пальцы кисти рук они без мытья опускали на стерильный пластинчатый казеиново-соевый агар (КСА), затем руки обрабатывались антисептиком, высушивали на воздухе в течение 3 мин и снова делали отпечатки на КСА.

Для исследования группы «В» этапы испытания соответствовали испытаниям в группе «А». В группе «В» кисти рук добровольцев подвергались микробной нагрузке с опусканием в суспензию штамма кишечной палочки *E. coli* ATCC 11229 ($1,2 \times 10^9$ КОЕ).

1 группа (контрольная) – кисти рук первых трех добровольцев опускали в суспензию штамма кишечной палочки ATCC 11229 ($1,2 \times 10^9$ КОЕ), после высушивания, опускали на казеиново-соевый агар (КСА), затем руки мыли под водой без использования мыла и опускали на КСА.

2 группа (сравнения) – руки следующих трех участников опускали в суспензию штамма кишечной палочки АТСС 11229 ($1,2 \times 10^9$ КОЕ) и, после высушивания, опускали на казеиново-соевый агар (КСА), затем мыли под водой с использованием мыла, высушивали на воздухе в течение 3 мин и опускали на КСА.

3 опытная группа – 15 участников из группы «В» разделили на 5 подгрупп для испытания каждого антисептика. Кисти рук добровольцев после мытья под водой без использования мыла опускали в суспензию штамма кишечной палочки АТСС 11229 ($1,2 \times 10^9$ КОЕ) и после высушивания, опускали на казеиново-соевый агар (КСА), затем обрабатывали одним из видов антисептика высушивали на воздухе в течение 3 мин и опускали на КСА.

Результаты. Исследования показали, что в первой группе «А» в контроле после мытья рук чистой водой с крана количество микроорганизмов в среднем уменьшилось на 70 колониеобразующих единиц (КОЕ), что составило 24%. После мытья с мылом их стало на 345 КОЕ меньше – на 63%. При обработке рук антисептическим гелем Dr. Hand на 297 КОЕ (97%), гелем Dettol – на 80 КОЕ (81%), Cleanberry – на 335 КОЕ (77%), Sterillium – на 130 КОЕ (10%), а при обработке антисептическим гелем Хлогель – на 378 КОЕ (80%). Во второй группе «Б» с предварительной обработкой рук кишечной палочкой выявили, что в контроле после мытья рук чистой водой с крана количество микроорганизмов в среднем уменьшилось на 244 КОЕ, что соответствовало уменьшению на 53%. После мытья с мылом их стало на 215 КОЕ (60%) меньше. При обработке рук антисептическим гелем Dr. Hand на 411 КОЕ (30%); гелем Dettol – на 251 КОЕ (53%); Cleanberry – на 410 (36%); Sterillium – на 298 КОЕ (44%), а при обработке антисептическим гелем Хлогель – на 317 КОЕ (41%). Сравнивая полученные результаты нужно отметить, что уменьшение микроорганизмов на руках любым способом приводило к уменьшению микроорганизмов на руках, однако при использовании мыла и антисептиков эффективность была выше, чем в группе контроля при обработке рук чистой водой. Обработка рук туалетным мылом оказалась не менее эффективная, чем обработка гелями с антисептическими, а не редко и даже лучше.

Выводы. Все исследуемые антисептики обладают бактерицидными свойствами. Эффективность их действия разная. Наибольшей активностью обладали Dr. Hand, наименьшей – Dettol. Эффективность обработки рук с мылом оказалась не менее эффективная, чем при обработке антисептическими.

Литература

1. Красильников, А.П. Справочник по антисептике. – Мн., 1995. – С. 25-29.
2. Качан, Р.В. Антисептика рук / Р.В. Качан, О.А. Андреева, А.П. Строкань // Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. – 2014. – № 1, Т. 75. – С. 25-29.
3. Мельникова Г.Н. Кожные антисептики для обеззараживания рук медицинского персонала в целях оптимизации профилактики внутрибольничных инфекций в медицинских учреждениях / Г.Н. Мельникова, Л.И. Анисимова.// Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. – № 1. – С. 51-59.

ЛИШАЙНИКИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Тапальский Д.В.¹, Косенкова К.М.¹,
Петренёв Д.Р.¹, Храмченкова О.М.²

¹Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

²Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Беларусь

Актуальность. Стремительное распространение множественной устойчивости к антибиотикам среди возбудителей бактериальных инфекций требует поиска соединений с новыми механизмами противомикробного действия. Лишайники и их многочисленные вторичные метаболиты рассматриваются в качестве перспективных источников таких соединений [3]. Работы по исследованию антибактериальной активности лишайников интенсивно проводятся в последнее десятилетие в ряде европейских стран [2, 4]. Среди огромного видового разнообразия лишайников только относительно небольшое их количество (не более 70-100 видов) было скринировано на присутствие антимикробных свойств, при этом более чем у половины исследованных видов такие свойства удавалось выявить.

Цель. Изучение спектра и выраженности антибактериальных и противогрибковых свойств у видов лишайников, широко представленных в лишенофлоре Беларуси.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 5 наиболее распространенных на территории Беларуси видов лишайников с хорошо описанным составом вторичных метаболитов: *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach., *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot.

Слоевища лишайников отбирали на типичных для каждого вида субстратах. Массу лишайников отделяли от субстрата и сушили до воздушно-сухого состояния. Для извлечения вторичных метаболитов высушенную массу лишайников измельчали при помощи лабораторной мельницы. Извлечение вторичных метаболитов проводили в ацетоне в аппарате Сокслета на протяжении 6 часов при температурах, не превышающих температуру кипения растворителя. После фильтрации растворитель испаряли при комнатной температуре.

В панель микроорганизмов для тестирования включены 13 эталонных штаммов из Американской коллекции типовых культур (АТСС), из них 5 штаммов грамположительных бактерий (*Enterococcus faecalis* АТСС 29212, *Enterococcus casseliflavus* АТСС 700327, *Staphylococcus aureus* АТСС 25923, *S. aureus* АТСС 6538, *S. saprophyticus* АТСС ВАА-750), 4 штамма грамотрицательных бактерий (*Enterobacter hormaechei* АТСС 700323, *Escherichia coli* АТСС 25922, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853, *Stenotrophomonas maltophilia* АТСС 17666) и 4 штамма грибов рода *Candida* (*C. albicans* АТСС 10231, *C. albicans* АТСС 14053, *C. albicans* АТСС 90029, *C. parapsilosis* АТСС 22019). Дополнительно в исследование включены 6 клинических изолятов грамотрицательных неферментирующих бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам (*P. aeruginosa* G-150, *S. maltophilia* 20014-163, *S. maltophilia* 20014-279, *S. maltophilia* 20014-283, *S. maltophilia* 2014-785, *S. maltophilia* 2014-1262).

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) экстрактов определяли методом микроразведений в стерильных полистироловых плоскодонных 96-луночных планшетах (Sarstedt, Германия). Сухие ацетоновые экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO), концентрация экстракта в DMSO 20 мг/мл. Далее из раствора в DMSO готовили двукратные серийные разведения экстрактов в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, США) и в бульоне Сабуро (HiMedia, Индия) в диапазоне концентраций от 500 до 4 мкг/мл. Для улучшения визуализации в бульоны предварительно был внесен метаболический индикатор – трифенилтетразолия хлорид в концентрации 200 мкг/мл. Из суточных культур тестируемых микроорганизмов, выращенных на ГРМ-агаре (бактерии) или агаре Сабуро (грибы), в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). По 1,5 мкл полученной суспензии вносили в лунки планшета, содержащие по 150 мкл серийных разведений экстрактов лишайников. Последнюю лунку, содержащую 150 мкл питательной среды и 1,5 мкл микробной суспензии, использовали в качестве контроля роста.

Планшеты инкубировали в шейкере-термостате 18 ч – 35°C (бактерии) или 48 ч – 28°C (грибы) с постоянным низкоамплитудным встряхиванием 90 об/мин. Учет МПК проводили по отсутствию видимого роста микроорганизмов, сравнивая опытные и контрольные лунки, а также лунки с инокулированной питательной средой. Для определения минимальных бактерицидных концентраций (МБК) выполняли высев 10 мкл содержимого каждой лунки на сектор плотной питательной среды (ГРМ-агар для бактерий или агар Сабуро для грибов). После 24-часовой инкубации оценивали рост микроорганизмов, минимальную концентрацию, предотвращающую микробный рост, указывали как МБК.

Результаты. Выход ацетоновых экстрактов (в пересчете на сухую массу) составил для *H. physodes* – 11,8%, *X. parietina* – 9,2%, *E. prunastri* – 12,2%, *R. pollinaria* – 9,9%, *C. arbuscula* – 13,7%.

Отмечена выраженная антибактериальная активность экстрактов *H. physodes* и *C. arbuscula* в отношении стафилококков и энтерококков (МПК 31-62 мкг/мл), экстракт *R. pollinaria* был активен против них в концентрациях 125-250 мкг/мл. Антимикробная активность в отношении штаммов энтеробактерий и *P. aeruginosa* отсутствовала в тестируемом диапазоне концентраций у всех экстрактов. Выявлена активность экстрактов *E. prunastri*, *H. physodes* и *C. arbuscula* (МПК 250-500 мкг/мл) в отношении всех штаммов *S. maltophilia*. Экстракт *X. parietina* не был активен в отношении всех тестируемых микроорганизмов. Противогрибковая активность (МПК 500 мкг/мл для всех штаммов *Candida*) выявлена только для экстракта *E. prunastri*.

МБК для большинства экстрактов с выявленной антимикробной активностью были равны МПК или отличались от нее не более чем на 1 разведение, что свидетельствует о преимущественно бактерицидном действии комплекса содержащихся в экстрактах вторичных метаболитов лишайников на микробную клетку.

Выводы. Противомикробная активность экстрактов лишайников проявлялась главным образом в отношении грамположительных бактерий, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований. Показан преимущественно бактерицидный характер антимикробного действия. Антибактериальная активность была выражена сильнее, чем противогрибковый эффект, что может быть обусловлено значительными отличиями в строении клеточной стенки бактерий и грибов, а также различной ее проницаемостью для антибактериальных компонентов экстрактов. Заслуживает особого внимания выявленная антимикробная активность экстрактов *E. prunastri*, *H. physodes* и *C. arbuscula* в отношении *S. maltophilia* – грамотрицательной нефер-

ментирующей бактерии с природной устойчивостью к большинству антибиотиков. В связи с множественной лекарственной устойчивостью клинических штаммов *S. maltophilia* возможности выбора химиотерапевтических препаратов для лечения инфекций, вызванных этим микроорганизмом, крайне ограничена [1]. В этой связи лишайники можно рассматривать как возможный источник получения антимикробных соединений с антистенотрофомонадной активностью.

Направлением дальнейших исследований может стать выделение, очистка и изучение спектра антибактериальной активности отдельных вторичных метаболитов, входящих в состав *H. physodes* и *C. arbuscula*.

Литература

1. Chang Y.T., Lin C.Y., Chen Y.H., Hsueh P.R. Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front. Microbiol.* 2015, 6: 893.

2. Rankovic B., Mistic M., Sukdolak S. Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla* // *Br. J. Biomed. Sci.* 2007, 64(4): 143-148.

3. Srivastava P., Upreti D.K., Dhole T.N. et al. Antimicrobial property of extracts of Indian lichen against human pathogenic bacteria. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2013, 2013: 709348.

4. Studzinska-Sroka E., Holderna-Kedzia E., Galanty A. et al. In vitro antimicrobial activity of extracts and compounds isolated from *Cladonia uncialis*. *Nat. Prod. Res.* 2015; 29(24): 2302-2307.

БЫСТРАЯ ДИАГНОСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПАТОГЕНОВ БЕЗ УСТАНОВЛЕНИЯ ИХ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Таранда Н.И., Касперович В.В.

Гродненский государственный аграрный университет
Кафедра микробиологии и эпизоотологии

Актуальность. Часто встречаясь во время работы с необходимостью установления возбудителей маститов у коров того или иного хозяйства с целью определения их устойчивости к антибиотикам или комплексным шприцевым препаратам, приходится значительную часть времени тратить на установление вида возбудителя заболевания [1, 2]. Первым путем может быть установление наличия в молоке больных коров наиболее многочисленных микроорганизмов, которые не относятся к представителям нормальной микрофлоры молока и

определение их резистентности к терапевтическим препаратам. Главное для ветврача в таком случае отобрать образцы молока у нескольких больных коров, которые не подвергались лечению. Соблюсти это правило под силу далеко не каждому. А ведь, если на ферме появились заболевшие коровы, то у них, как правило, будет один основной возбудитель мастита. Поэтому, лучше взять молоко от 5 больных коров, которых еще не лечили, чем от 20 леченных, из молока которых микрофлора на питательных средах вырастет из 1-2 проб. При выполнении исследований к микробиологу ставится основное требование – быстрота результата. Поэтому вторым путем ускорения работы может быть, приготовление нескольких разведений молока – 1:10, 1:100 или 1:1000 и газонный посев непосредственно из этих разведений с последующим раскладыванием стандартных дисков, пропитанных антибиотиками или другими лечебными препаратами. Результат, хотя и приблизительный, может быть готов уже через сутки, что значительно ускорит борьбу с болезнью животных.

Цель. Ускоренные методы диагностики антибиотикочувствительности, которые, скорее всего не очень приветствуются официальной медициной, могут быть применены и в отношении возбудителей заболеваний человека, чему есть несколько примеров из нашего опыта. Это установление чувствительности возбудителя цистита к антибиотикам у молодой женщины, которая прошла курс лечения, назначенный врачом поликлиники, и при этом у нее не наблюдалось положительного эффекта от лечения. Результат был получен на 2-й день исследования. Через 8 суток, полученный нами результат был подтвержден исследованиями, проведенными в городской санстанции г. Гродно. Во втором случае, у женщины с варикозным заболеванием вен, которые гноились, было заключение из санстанции, что ими выделены из гноя один из видов стрептококков и *Proteus vulgaris*, который не чувствителен к антибиотикам. Была предпринята попытка найти антибиотик, действующий на возбудителей патогенного процесса.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований по определению антибиотикорезистентности возбудителей заболеваний были использованы питательные среды, диски индикаторные с антибиотиками [3]. В случае с циститом проводился газонный посев на чашку Петри с питательной средой непосредственно мочой, взятой в стерильную баночку со средней фракции. Хотя, казалось бы, что необходимо было осаждать микрофлору в нижнюю часть пробирки путем центрифугирования. Это не делалось. Рост на чашке предполагаемого возбудителя оказался настолько мощным, что его было достаточно для установления резистентности микроба к 16 антибиотикам.

Во втором случае посев был произведен на питательные среды стерильным тампоном, использованным для взятия гноя. На поверхность посева были разложены диски со следующими антибиотиками: полимиксин, гентамицин, кларитромицин, стрептомицин, амоксициллин, цiproфлоксацин, ломофлоксацин, амикацин, оксациллин, цефтазидим, меропенем, доксициклин. Несмотря на то, что при таком посеве рост микроорганизмов оказался не очень аккуратным, возле некоторых дисков просматривались зоны частичного отсутствия роста микрофлоры. Однако, были отобраны антибиотики, к которым наблюдалась якобы какая-то чувствительность бактерий, а посев на МПА и среду Эндо проводился уже смешанной взвесью, приготовленной из выросших колоний на обеих средах.

Результаты. В первом случае, проведенное исследование позволило уже на второй день установить, что возбудитель цистита является высокочувствительным только к одному антибиотику – амикацину. В этот же день специалистом было назначено лечение этим недорогим антибиотиком, которое оказалось успешным.

Во втором случае, при первичном посеве тампоном наблюдались следующие зоны угнетения роста в мм: на МПА – кларитромицин (35), меропенем (20), доксициклин (18); на среде Эндо – гентамицин (20), стрептомицин (10), цiproфлоксацин (10).

После повторения исследования с использованием взвеси, выросших при первом исследовании микробов, и выше названных антибиотиков было установлено, что задержка роста бактерий, растущих на среде МПА заметна только вокруг диска с антибиотиком меропенем (30 мм) и кларитромицином (25 мм). Однако через центральную часть, включая сам диск с кларитромицином, наблюдался полосный рост микроорганизмов. На среде Эндо роста не было только вокруг диска с меропенемом (25 мм), что указывает на то, что протей оказался высокочувствительным к данному антибиотику. Одновременно на среде Эндо наблюдалась зависимость протей к таким антибиотикам, как стрептомицин, цiproфлоксацин, кларитромицин, доксициклин. Их использование могло бы только ухудшить состояние больной.

Выводы. Для лечения цистита был использован быстрый метод определения резистентности возбудителя, что позволило найти достаточно сильный по действию на него антибиотик, оказавшийся очень эффективным в данной ситуации терапевтическим препаратом.

Микробиологическое исследование гноя и применение дискового метода для установления чувствительности *Proteus vulgaris* к 12 антибиотикам показало, что все-таки есть антибиотик, способный воздействовать на данный микроорганизм. Им оказался меропенем, достаточно дорогой препарат. Однако он пока не был применен,

так как больная решила воспользоваться услугами опытной медсестры и ограничиться частыми обработками раны и перевязками. Но у нее есть еще и возможность применения антибиотика, к которому у возбудителя нет устойчивости.

Литература

1. Таранда, М. І. Антыбіётыкаадчувальнасць *Serratia marcescens*, выдзеленай са змываў саскоў каровы, хворай на мастыт / М. І. Таранда, К. В. Кароль // XVI міжнародная навучна-практычная канферэнцыя «Современные технологии сельскохозяйственного производства»: агрономія. Ветэрынарыя. Зоотэхнія : матэрыялы канферэнцыі (Гродно, 17 мая, 7 чэрвеня 2013 года) / Учреждение образования «Гродненский государственный аграрный университет». – Гродно, 2013. – С. 289-291.

2. Таранда, М. І. Выдзяленне ўзбуджальніка мастытаў на ферме СВК «Азёры» і яго адчувальнасць да антыбіётыкаў / М. І. Таранда, А. М. Міхалюк, М. І. Дзянісевіч // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XIX Международной научно-практической конференции (Гродно, 19,13 мая 2016 г.) : ветеринария, зоотехния / УО «ГГАУ». – Гродно, 2016. – С. 106-108.

3. Практикум по общей микробиологии: учеб. пособие / А.А. Солонко, А.А. Гласкович, В.Н. Алешкевич и др.; под ред. А.А. Гласкович. – Мн.: Ураджай, 2000. – 280 с.

ОСОБЕННОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В УСЛОВИЯХ ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА г. ГРОДНО

Тауб Г.С.*, Соколов К.Н.*, Сильванович С.С.**,
Исаева Л.Э.*, Марианьска И.*

*Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра пропедевтики внутренних болезней

**Гродненская областная клиническая больница медицинской реабилитации

Актуальность. Внебольничная пневмония – широко распространенное заболевание у взрослых, занимающее ведущее место в структуре заболеваемости и смертности от инфекционных болезней в развитых странах. В настоящее время пневмония является основной причиной летальности среди всех инфекционных осложнений во всех возрастных группах и шестой ведущей причиной смерти у подобной категории больных старше 65 лет [1]. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, инфекция нижних дыхательных путей является причиной смерти у 3,5 млн человек ежегодно [2].

Пневмонии – группа разных по этиологии инфекционных заболеваний легочной паренхимы (чаще – альвеол, реже – интерстициальной ткани), которые сопровождаются инфильтрацией альвеол клетками воспаления и экссудацией в ответ на внедрение микроорганизмов в стерильные отделы респираторного тракта, что клинически проявляется бронхо-легочно-плевральным и интоксикационным синдромами [3].

Антибактериальную терапию пневмоний принято условно разделять на два этапа: до выявления возбудителя (эмпирический) и после его выявления (по данным этиологической диагностики и исследований чувствительности к антибиотикам). Поскольку результаты лабораторных исследований для идентификации возбудителя бывают готовы не ранее, чем на 2-3-й день [3], поэтому антибактериальную терапию практически всегда назначают эмпирически. Облегчить выбор терапии призваны рекомендации по клинической практике, которые основаны на стратификации больных по группам [3]. При этом учитывается тяжесть состояния пациента, наличие интеркуррентных заболеваний и факторов риска. Кроме того, важно, что каждой из групп соответствует определенный спектр возбудителей. Это и определяет выбор препаратов для эмпирической терапии. Важно отметить, что выделению и идентификации возбудителя в мировой медицинской практике сейчас уделяется первоочередное внимание [3].

Цель работы. Выяснить особенности применения антибактериальной терапии в условиях специализированного пульмонологического стационара г. Гродно.

Материал и методы исследования. Нами проанализировано 176 историй болезни пациентов, госпитализированных в пульмонологическое отделение ГОКБ МР в период с января 2015г. по октябрь 2015г. Среди поступивших было 51,14% женщин и 48,86% мужчин. Средний возраст составил $46,4 \pm 16,7$ лет, минимальный 17 лет, максимальный 90 лет. Курящих было 24,43% пациента. Работающих было 68,75%. Вредные условия работы отмечали только 8,5% пациентов (12,39% от всех работающих). К сожалению, в историях болезни отсутствовали сведения о вакцинации против гриппа, что указывает на недооценку врачами этих данных. Острое начало заболевания отмечалось в 64,77% случаев. При профилактическом или случайном обследовании диагноз пневмонии выставлялся в 3,98%. У 15,34% поступивших отсутствовали данные о лихорадке в домашних условиях, что указывает на недостаточный сбор анамнеза заболевания у данных пациентов. У остальных лихорадку до поступления в стационар отмечали 94,64% пациентов. Наиболее часто встречалась температура 38°C . Среднее значение температуры составило $38,04^{\circ} \pm 0,73^{\circ}\text{C}$.

Температура до 38°C встречалась в 24,83% случаев. Только у 13,63% отмечалась лихорадка 39°C и выше. При поступлении в приемное отделение температура тела была $37,33 \pm 0,73$ °C, наиболее часто встречалась субфебрильная температура. Только у 22,16% она была 38°C и выше. Средняя продолжительность лихорадки составила $5,3 \pm 4,7$ дня, наиболее часто встречаемая продолжительность 2 дня, у 26,7% длительность общего лихорадочного периода составила 7 дней и более. Средняя длительность лечения до поступления в больницу составила $5,4 \pm 3,5$ дня, наиболее часто – 3 дня. Только в 9,1% случаев пациенты поступали в первый день болезни. Средняя продолжительность стационарного этапа $12,1 \pm 3,4$ дней, наиболее часто – 10 дней, минимальный период 6, а максимальный 26 дней.

Результаты. Проводимая антибактериальная терапия основывалась только на эмпирической терапии. В единичных случаях (2 пациентов) были установлены возбудители пневмонии, но на антибактериальную терапию это не повлияло из-за позднего определения микроорганизма. В ряде случаев, при тяжелом течении пневмонии выполнялась диагностическая бронхоскопия с целью забора материала из бронхиального дерева, но, как правило, возбудитель не удавалось выделить.

Среди антибиотиков наиболее часто назначался цефтриаксон – в 73,86% случаев, в 14,77% – назначался левофлоксацин и только в 1,14% – азитромицин, но в комбинации с другими антибиотиками он назначался в 2,84%. Крайне редко назначался амикацин (2 случая – 1,14%) и амоксициллин (2 случая – 1,14%). Всего лишь в двух случаях использовалась комбинация левофлоксацина и цефтриаксона. В 20,45% случаев (36 пациентов) потребовалась смена антибиотика из-за отсутствия эффекта, сохранения лихорадки. Важно отметить, что назначая другой антибактериальный препарат, врачи не опирались на данные о патогенном микроорганизме. Наиболее часто, а это в 15,38% от числа пациентов, получающих цефтриаксон в качестве стартовой терапии, смена происходила с цефтриаксона на левофлоксацин. Таким образом, доля получавших левофлоксацин возростала до 26,13% пациентов. В 6,92% случаев смена антибиотиков происходила с цефтриаксона на азитромицин. Таким образом, цефтриаксон менялся в 22,3% случаев. В единичных случаях (по 2 пациента – 1,14%) левофлоксацин менялся на азитромицин или наоборот. При смене антибиотика практические врачи учитывали данные о применении других антибиотиков до курса цефтриаксона, принимали во внимание возможные лекарственные взаимодействия и коморбидность, но они не опирались на результаты микробиологического исследования по выявлению возбудителя заболевания в виду отсутствия своевременно

результатов исследования. Все это косвенно указывает на достаточно высокие показатели резистентности микрофлоры к стартовой терапии антибиотиками, в частности к цефтриаксону.

Срок лечения внебольничной пневмонии в среднем составил 12,1 дня, но наиболее часто 10 дней. Антибактериальная пневмония практически продолжается до дня выписки из стационара и это в среднем составляет 10 дней.

На фоне проведенной терапии полное рассасывание через 10 дней с рентгенологическим контролем наблюдалось у 47 пациентов (26,7%), но у 129, а это 73,3% имелись рентгенологически небольшие остаточные изменения. Антибактериальная терапия данной группе пациентов была продолжена и при контрольной рентгенографии в день выписки полное рассасывание отмечалось уже у 150 пациентов (85,23%), лишь у 23 (13,07%) терапия была продолжена преимущественно на амбулаторном этапе.

Выводы. Проводимая антибактериальная терапия в пульмонологическом отделении основывалась только на эмпирическом подходе. Наиболее часто в качестве стартовой терапии назначался цефалоспориновый антибиотик 3-го поколения – цефтриаксон (в 73,86% случаев). Как правило, в каждом пятом случае (в 20,45% случаев) отмечалась неэффективность стартовой антибактериальной терапии и проводилась смена стартового антибиотика. Цефтриаксон заменялся еще чаще – в 22,3% случаев, что косвенно указывало на высокую встречаемость антибиотикорезистентности к нему. В подавляющем большинстве случаев возбудитель заболевания не был идентифицирован. Даже диагностические бронхоскопии в большинстве случаев не позволили выявить конкретного возбудителя заболевания. Все это указывает на необходимость совершенствования микробиологической диагностики и более широкое ее использование в пульмонологическом стационаре.

Литература

1. Minino A.M. Deaths: preliminary data for 2004 / A.M. Minino, M.P. Heron, B.L. Smith // *Natl. Vital. Stat. Rep.* – 2006. – Vol. 54, № 19. – P. 1-49.
2. Wunderink R.G. Community-acquired pneumonia / R.G. Wunderink, G.W. Waterer // *N.Engl. J.Med.* – 2014. – Vol. 370, № 19. – P. 1863.
3. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике / А.Г. Чучалин [и др.] // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* – 2006. – Т. 8. – № 1. – С. 54-86.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДА В НЕКОТОРЫХ ОБЛАСТЯХ НАРОДНОГО ХОЗЯЙСТВА

Юхневич Г.Г., Колесник И.М., Белова Е.А.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Беларусь
Кафедра экологии

Актуальность. В последние годы большой интерес исследователей вызывает новый класс полимеров – полимерные биоциды, которые являются более эффективными и менее опасными для человека по сравнению с низкомолекулярными биоцидными веществами, традиционно применяемыми в различных отраслях народного хозяйства. Одними из представителей нового поколения являются препараты на основе полигексаметиленгуанидина хлорида (ПГМГХ) [2].

Цель – оценить эффективность обеззараживания препаратом на основе ПГМГХ воды плавательных бассейнов.

Материалы и методы исследования. Оценка возможности использования антимикробного препарата на основе ПГМГХ (жидкая форма, 20 %-й водный раствор) для обеззараживания воды плавательных бассейнов аквапарка велась в несколько этапов с применением стандартных методов анализа [1].

Результаты. На *первом этапе* (рекогносцировочное исследование) препарат на основе ПГМГХ вносили непосредственно в ванны двух бассейнов «джакузи» в объеме $20 \text{ см}^3/\text{м}^3$ воды (что в 2 раза превышало рекомендуемые инструкцией производителем значения, концентрация действующего вещества при этом составляла $4 \text{ мг}/\text{дм}^3$). Вода в бассейне аквазоны и бассейне джакузи № 3 при этом подвергали хлорированию препаратом на основе гипохлорита («Эмовекс»). Анализ микробиологических показателей воды показал значительно более высокую эффективность метода хлорирования в условиях данного объекта (табл. 1).

Вода в джакузи, обработанная раствором ПГМГХ, не соответствовала гигиеническому нормативу [2] по содержанию общих колиформных бактерий, что вызвало необходимость более детального уточнения режимов обеззараживания бассейнов.

На *втором этапе* проверялись нескольких гипотез о возможных причинах повышенного содержания микроорганизмов в воде при применении раствора ПГМГХ: наличие в скважинной воде, подпитывающей бассейны, большого количества легко окисляемой органики;

неудовлетворительное состояние песчаных фильтров, через которые циркулирует вода и др.

Таблица 1. – Микробиологические показатели воды бассейнов по при применении разных дезинфицирующих препаратов

Вид обработки воды	Вода из бассейна аквазоны, в постоянном режиме «Эмовекс» 1000 см ³ /сут	Вода бассейнов «джакузи»		
		№ 1, однократно раствор ПГМГХ 20 см ³ /м ³	№ 2, однократно раствор ПГМГХ 20 см ³ /м ³	№ 3, однократно «Эмовекс» 200 см ³ /м ³
ОМЧ, КОЕ/см ³	не обнаружены	624	508	2
Титр общих колиформных бактерий, см ³	более 100	0,02	0,02	1,25

Проверка первой гипотезы проводилась путем анализа качества воды из ведомственной артезианской скважины, используемой как для заполнения бассейнов, так и для питьевого водоснабжения, по микробиологическим и химическим показателям. Пробы отбирались из системы ведомственного водопровода, перед подачей в которую вода проходит озонирование. Результаты анализа показали, что в данном объекте исходная вода, используемая для пополнения плавательных бассейнов, не соответствовала по микробиологическим показателям действующим гигиеническим нормативам [3]. Кроме того, в поступающей воде установлено значительное превышение содержания железа, что могло вызвать связывание действующего вещества препарата ПГМГХ присутствующими катионами металлов.

Таблица 2. – Качество воды из артезианской скважин для заполнения бассейнов

Показатели	Значения показателей	Гигиенические нормативы для централизованного водоснабжения
ОМЧ, КОЕ/см ³	113	менее 50
Перманганатная окисляемость, мг О ₂ /дм ³	5,1–6,0	5,0
рН, единицы	7,7–7,8	6,0–9,0
Общая жесткость, мг-экв./дм ³	6,2–6,5	7,0
Хлорид-ионы, мг/дм ³	43–61	700
Нитрат-ионы, мг/дм ³	5–33	45
Цветность, градусы	7–8	20
Железо общее, мг/дм ³	6,2–6,5	0,3
Запах воды (баллы)	1	2

Проверка второй гипотезы проводилась путем промывки фильтра джакузи № 1 водой под давлением. Непосредственно после промывки общая численность бактерий в воде джакузи оставалась высокой и не соответствовала нормативу. После однократной обработки воды перед фильтром раствором ПГМГХ в количестве 20 см³/м³ ОМЧ снизилось в 6,4 раза (табл. 3). Содержание БГКП также снизилось в 12 раз, однако не достигло нормативного значения. Для обработки воды джакузи № 2 было применено количество раствора ПГМГХ, в 10 раз превышающее рекомендованное инструкцией производителя, однако титр ОКБ удавалось повысить лишь до значения 0,12 см³, и лишь последующая обработка воды джакузи № 2 хлорсодержащим препаратом «Эмовекс» привела микробиологические показатели воды в соответствие с требованиями. К воде джакузи № 3 применялась ежедневная в течение 2-х недель обработка раствором ПГМГХ из расчета 60 см³/м³, после чего пробы воды пришли в соответствие с требованиями.

Таблица 3. – Микробиологический состав воды джакузи № 1 после промывки фильтра

Пробы воды	ОМЧ, КОЕ/см ³	Титр ОКБ, см ³
После промывки фильтра до обработки раствором ПГМГХ	270	0,04
После промывки фильтра после обработки раствором ПГМГХ	42	0,5

На всех этапах работы проводилось исследование химических показателей воды. Установлено, что использование раствора ПГМГХ при дезинфекции не приводило к ухудшению физико-химических показателей воды плавательных бассейнов, в отличие от препарата на основе гипохлорита натрия.

Выводы. В плавательных бассейнах на расход препарата на основе ПГМГХ влияют параметры подпиточной воды, увеличение нагрузки на бассейн за счет числа посетителей, регулярность проведения обратной промывки фильтровальной системы бассейна. В рекомендованной производителем максимальной дозировке препараты на основе ПГМГХ не позволяют получить стабильные результаты по обеззараживанию воды. При использовании таких препаратов рекомендуется:

- исключить источники микробиологического и органического загрязнения воды из скважины, используемой для заполнения бассейна;

- перед проведением обратной промывки песчаных фильтров обрабатывать их после спуска воды концентрированным (38-50%) раствором H₂O₂ с целью окисления накопившейся органики;

- перед добавлением препаратов тщательно дехлорировать воду;
- увеличить дозировку добавляемого препарата с учетом содержания ионов железа.

Литература

1. Методы санитарно-микробиологического контроля воды плавательных бассейнов. Инструкция по применению. – Утв. гл. гос. сан. врачом Республики Беларусь 19 марта 2010 г. Регистрационный № 070-0210. – Мн., 2010. – 25 с.

2. Санитарные нормы, правил и гигиенические нормативы «Гигиенические требования к устройству, оборудованию и эксплуатации плавательных бассейнов и аквапарков» (в ред. постановления МЗ РБ от 01.07.2010 № 76).

3. Санитарные правила и нормы «Питьевая вода и водоснабжение населенных мест. Питьевая вода Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». – СанПиН 10-124 РБ 99» (в ред. постановления МЗ РБ от 26.03.2002 № 16).

СОДЕРЖАНИЕ

Горецкая М.В.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТУБЕРКУЛЁЗНОЙ ПАЛОЧКИ
НА КАФЕДРЕ ИМЕНИ С. И. ГЕЛЬБЕРГА.....4

Волосач О.С., Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ВОЗРАСНОЙ
СТРУКТУРЫ ПАЦИЕНТОВ С СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ
г. ГРОДНО В 2015-2016 ГОДАХ.....7

Волосач О.С., Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

СТРУКТУРА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА,
ИЗ КОТОРОГО БЫЛА ВЫДЕЛЕНА *P. AERUGINOSA*
У ПАЦИЕНТОВ СТАЦИОНАРОВ г. ГРОДНО В 2016 ГОДУ 10

Волосач О.С., Кузьмич И.А., Заяц Я.К.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
АУТОВАКЦИНОТЕРАПИИ ПРИ СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ..... 13

Гельберг И.С., Рублевская М.В., Санукевич Т.Г.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ПОВЫШЕННЫМ
КОНЦЕНТРАЦИЯМ ИЗОНИАЗИДА ПРИ НАЛИЧИИ
РЕЗИСТЕНТНОСТИ К СТАНДАРТНЫМ 17

Горецкая М.В.

СОВРЕМЕННЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА 20

Горецкая М.В.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА
ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *Mycobacterium tuberculosis* 24

Горецкая М.В.

КВАНТИФЕРОНОВЫЙ ТЕСТ – ИНОВАЦИОННЫЙ МЕТОД
ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА 28

Дегтярева Е.И., Гуминская Е.Ю., Зинкевич О.В.

ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА ЛЮДЕЙ
ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ СО СТОРОНЫ
ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ..... 32

Дегтярёва Е.И., Сотникова В.В., Волчек В.С.	34
РОЛЬ СТОЧНЫХ ВОД ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЁМОВ ГОРОДА ГОМЕЛЯ И ГОМЕЛЬСКОГО РАЙОНА.....	34
Добродей М.А., Зинчук В.В., Ильина И.И.	
ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ.....	38
Жмакин А.И., Павлюковец А.Ю., Смирнов В.Ю., Шейбак В.М.	
СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ В ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШКАХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ТРИТАРГА И ВИТАМИНА В ₆	41
Козлова А.И., Тапальский Д.В.	
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	44
Лагун Л.В.	
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ БИОПЛЁНОЧНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТАХ.....	47
Медведь А.В.	
ПРИМЕНЕНИЕ 3D-СКАНИРУЮЩЕЙ ЛАЗЕРНОЙ РАМАНОВСКОЙ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	50
Островцова С.А.	
ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А С ПРОБИОТИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ.....	53
Рыбак Н.А., Соколова Т.Н.	
МИКРОФЛОРА НЁБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ	56
Соколова Т.Н.	
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА.....	60
Соколова Т.Н., Багрим Е.В., Романович А.В.	
ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ КОСМЕТИЧЕСКИХ ГЕЛЕЙ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА МИКРОФЛОРУ КОЖИ РУК.....	64

Тапальский Д.В., Косенкова К.М., Петренёв Д.Р., Храмченкова О.М.

ЛИШАЙНИКИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК
СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ 67

Таранда Н.И., Касперович В.В.

БЫСТРАЯ ДИАГНОСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
ПАТОГЕНОВ БЕЗ УСТАНОВЛЕНИЯ ИХ ВИДОВОЙ
ПРИНАДЛЕЖНОСТИ 70

Тауб Г.С., Соколов К.Н., Сильванович С.С., Исаева Л.Э., Марианьска И.

ОСОБЕННОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В УСЛОВИЯХ
ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА г. ГРОДНО..... 73

Юхневич Г.Г., Колесник И.М., Белова Е.А.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА
НА ОСНОВЕ ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНА ГИДРОХЛОРИДА
В НЕКОТОРЫХ ОБЛАСТЯХ НАРОДНОГО ХОЗЯЙСТВА 77

Научное издание

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ,
ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ

Сборник материалов
научно-практической конференции

31 октября 2017 года

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Компьютерная верстка М. Я. Милевской

Подписано в печать 17.11.2017.
Тираж 9 экз. Заказ 190.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.

ISBN 978-985-558-921-2

