

**УСПЕХИ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
МИКОЛОГИИ**

Под общей научной редакцией  
Ю.В. Сергеева

**Том XIV**

**МАТЕРИАЛЫ  
III МЕЖДУНАРОДНОГО  
МИКОЛОГИЧЕСКОГО ФОРУМА**

Москва  
Национальная Академия Микологии  
2015

ББК 28.591 +51.230  
УДК 576.3+582.28(083.71)+615.282.03-085  
У78

## **Редакционная коллегия:**

Сергеев Ю.В. (главный редактор)  
Бурова С.А. (ответственный секретарь)  
Бибикова М. А.  
Дьяков Ю.Т.  
Караулов А.В.  
Клясова Г.А.  
Липницкий А.В.  
Озерская С.М.  
Сергеев А.Ю.  
Феофилова Е.П.

У78 **Успехи медицинской микологии.** Т. 14. М.: Нац. акад. микол.  
2015. – 504 с.

ISSN 2310-9467

ISBN 978-5-901578-18-6

В 14-й том российского периодического издания «Успехи медицинской микологии» вошли 9 глав, содержащих данные новых исследований эпидемиологии, этиологии, патогенеза, диагностики и терапии поверхностных и глубоких микозов от дерматофитии до оппортунистических и инвазивных инфекций. Отдельные главы посвящены проблемам кандидоза и микогенной аллергии, а также вопросам микотоксикологии. Традиционно часть издания отведена фундаментальным аспектам медицинской микологии, разработке новых диагностических средств, перспективных антимикотиков и лекарств на основе грибных биотехнологий.

«Успехи медицинской микологии» выходят с 2003 г. и индексируются в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ) и базе данных CrossRef. Международное название журнала: *Advances in Medical Mycology*  
Архив сборника доступен по адресу <http://www.mycosis.org>

***Издано в Российской Федерации в рамках программы и по рекомендации  
Ученого Совета Национальной академии микологии***

ISSN 2310-9467

ISBN 978-5-901578-18-6



© Национальная академия микологии, 2015

## ПРЕДИСЛОВИЕ

В 2015 году Национальная академия микологии – общероссийская общественная организация, объединяющая ученых и специалистов-микологов – отмечает свое пятидесятилетие. За это время проведены 3 Съезда микологов, 6 Всероссийских конгрессов по медицинской микологии, два междисциплинарных микологических форума. Настоящий форум, третий по счету, проводится в международном формате: как за счет большей интеграции российской микологии в научную жизнь мирового сообщества, участием авторов из стран ближнего и дальнего зарубежья, так и благодаря поддержке международных микологических организаций: Европейской конфедерации медицинских микологов (ЕСММ), Международного общества медицинской и ветеринарной микологии (ISHAM), Европейского общества клинической микробиологии и инфекционных болезней (ЕССМID) и Федерации европейских микробиологических обществ (FEMS). И если мероприятия Национальной академии микологии стали де-факто крупнейшими микологическим событиями Евразии, то формат настоящего тома «Успехов медицинской микологии» также становится международным. Войдя в реестр периодических изданий и получив номер ISSN как журнал *Advances in Medical Mycology*, наши «Успехи» теперь реферируются в базе данных CrossRef, и количество ссылок на уже вышедшие 13 томов с каждым годом растет.

В настоящем, 14 томе «Успехов медицинской микологии» выйдут 9 глав материалов 3 Международного микологического форума. Они размещены традиционно для нашего издания: начинаются с проблемы поверхностных микозов, переходят к оппортунистическим и инвазивным микозам и завершаются междисциплинарными аспектами, общими для многих клинических и биологических специальностей. Отдельные главы посвящены проблемам онихомикоза, кандидоза, новым диагностическим технологиям и лекарствам из грибов.

Публикуя материалы микологического форума, мы впервые выпускаем данный сборник одновременно с изданием 4 тома «Современной микологии в России», куда включены работы, касающиеся в основном немедицинских аспектов микологических исследований.

Согласно решению издательского комитета Академии, с 2012 г. все наши издания размещаются в свободном доступе, при этом временные издания могут размещаться как на официальном сайте издания ([www.mycosis.org](http://www.mycosis.org)) так и в Национальной электронной библиотеке ([www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru)). Мы надеемся, что авторы найдут это удобным как для тематического поиска публикаций, так и для составления собственных списков литературы и получения оттисков отдельных страниц.

Кроме того, с 2013 года мы принимаем материалы в расширенном формате, включая таблицы, рисунки и списки литературы, что также представляет удобство для авторов и должно способствовать взаимному цитированию, а значит, – и расширению взаимодействия, объединению усилий исследователей из разных научных коллективов, институтов и стран.

Президент Национальной Академии Микологии,  
Заслуженный Врач Российской Федерации Ю.В. Сергеев

# Глава 1

---

## **Борьба с дерматофитией в России и Евразии. Дерматомикозы и трихомикозы**

### **Chapter 1**

---

## **Fighting the dermatophyte infections in Russia and Eurasia. Skin and hair mycoses**

## ТЕРАПИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО КАНДИДОЗА КОЖИ

Абдрашитов Ш.Г., Джусунгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш.

НИКВИ МЗ РК, Алма-Ата, Казахстан

Грибковые инфекции кожи и слизистых оболочек остаются одной из актуальных проблем в дерматологии. Причины, способствующие их развитию, разнообразны: нарушение питания, рост иммунодефицитных состояний, бесконтрольное использование антибиотиков, инфицирование и др. Необходимо отметить, что основным возбудителем кожных грибковых заболеваний является *Candida albicans*.

Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности и безопасности применения 1% крема терфалин (тербинафина гидрохлорид) в терапии поверхностного кандидоза кожи, обладающего высоким фунгицидным действием. Под наблюдением находилось 24 больных (10 мужчин, 14 женщин) с интертригенозным кандидозом кожи в возрасте от 18 до 53 лет. Лечение проводилось в амбулаторных условиях в течение 2 – 3 нед. Крем наносили тонким слоем 2 раза в день. Ни в одном случае побочные действия не выявлены, все больные отмечали хорошую переносимость препарата, удобство при его использовании. В процессе лечения резистентность к препарату не развилась. После окончания курса терапии в контрольных лабораторных результатах грибы рода *Candida* не обнаружены. Результаты излечения оценивали в течение 6 мес.

Т. обр., проведенные исследования свидетельствуют о высокой терапевтической эффективности 1%-ного крема терфалин при наружном применении в лечении поверхностных кандидозных поражений кожи. Крем терфалин можно рекомендовать для практического применения.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПРЕЯ ТЕРБИНАФИНА В ЛЕЧЕНИИ РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ

Абдрашитов Ш.Г., Джусунгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш.

НИКВИ МЗ РК, Алма-Ата, Казахстан

Под кератомикозами понимают грибковые заболевания кожи, при которых возбудители поражают только роговой слой эпидермиса. Разноцветный лишай – грибковое заболевание кожи, возбудителем которого является *Pityrosporum orbiculare*. Разноцветный лишай начинается с появления желтоватых точек, находящихся в устье волосяного фолликула. Затем, путем медленного периферического роста, эти элементы превращаются в округлые, резко очерченные пятна. Поверхность высыпаний покрыта отрубевидными чешуйками, образующимися в результате разрыхления грибом рогового слоя эпидермиса. Поэтому второе название разноцветного лишая — «отрубевидный». Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности препарата терфалин спрей 1% при отрубевидном лишае. Под наблюдением находилось 16 пациентов в возрасте 18–37 лет. У большинства больных были обширные очаги поражения в виде коричневых пятен с малозаметным шелушением без воспалительных проявлений кожи. Всем пациентам назначался терфалин спрей 1%-ный и терфалин (тербинафин) по 250 мг внутрь в сутки в течение 7 дней. После комплексной терапии у пациентов облегчалось клиническое улучшение. Проведены биохимические печеночные пробы и общий анализ крови — отклонений от нормы не выявлено. Нежелательных эффектов не отмечено. Исчезновение клинических симптомов разноцветного лишая явилось критерием излечения заболевания. Вышеуказанное свидетельствует об эффективности и безопасности терапии препаратом терфалин.

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОЗОВ СТОП В КАЗАХСТАНЕ

Акьшибаева К.С., Рамазанова Б.А.

Казахский Национальный медицинский университет им.  
С.Д. Асфендиярова, Алма-Ата

Дерматомикозы остаются одной из важнейших проблем дерматологии. Согласно данным, полученным в ходе выполнения комплексной межотраслевой программы “Здоровье”, на грибковые инфекции приходилось до 17% амбулаторной обращаемости в кожно-венерологические диспансеры из зарегистрированных в 90-е годы дерматомикозов в Республике Казахстан, свыше 80% составили дерматофитии, около 10% – грибковые поражения, вызванные *Candida* spp. (Шакиров М.Т. и др., 2004). Нарастающей проблемой являются смешанные микозы – полимикозы: наряду с грибковыми ассоциациями нередко наблюдаются грибково-бактериальные, грибково-вирусные. Большая доля среди дерматомикозов приходится на микозы стоп (МС), уровень инфицированности которых колеблется от 20 до 40% в зависимости от регионов.

Нами проведен анализ клинико-лабораторных данных 854 больных МС, из них 454 (58,6%) составили мужчины, 320 (41,4%) – женщины. Преобладали больные со сквамозной, сквамозно-гиперкератотической формой – 54,7%. В 1/3 случаев МС протекает с поражением ногтевых пластин стоп и кистей – 284 (33,2%), в 1,2 раза чаще регистрируемый у женщин (130/40,6% против 154/34,0%). У более половины пациентов (63,2%) наблюдалось поражение более 3 ногтевых пластин стоп, кистей. Отмечена тенденция с увеличением возрастного диапазона, увеличение числа больных с множественностью поражения. Все больные МС с поражением 6–10 ногтевых пластин относились к возрастной группе 51 и более лет. Степень выраженности онихомикоза коррелируется как с фоновыми заболеваниями, возрастным фактором, так и полиэтиологичностью заболевания.

Этиологическая структура возбудителей при МС была представлена следующим образом: грибы рода *Trichophyton* – 42,1%, в 24,4% случаях в ассоциации с грибами рода *Candida*, в 18,5% – с плесневыми грибами, *S. albicans* – 15,0%. При анализе этиоструктуры в зависимости от пола получены следующие данные: у мужчин в 2 раза МС вызывается *T. rubrum* (51,7 против 26,1%), в то время у

женщин превалируют *S. albicans* (22,7 против 10,3%) и ассоциация *T. rubrum* и плесневых грибов (24,0% против 15,1%). Среди выделенных грибов рода *Trichophyton* значительную часть составили *Tr. rubrum* – 69,3%), 22,7±4,8% – *Tr. mentagrophytes var. interdigitale seu Trichophyton interdigitale*. Лишь незначительный удельный вес (6,7%) приходится на *E. floccosum*. Четко прослеживается возрастание доли высеваемых оппортунистических грибов. Наиболее характерными таксонами грибов являются: *Candida* spp. (44,0%), *Aspergillus* spp. (9,3%).

О структуре и динамике микрофлоры очагов поражения при МС судили по степени доминантности, ассоциативной взаимосвязи и экологическому сходству. Выявленное преобладание *Tr. rubrum*, показатель постоянства которого составил 69,3% позволяет относить его к постоянным видам при микозах стоп. *Tr. mentagrophytes* в этиологической структуре МС по вышеуказанному показателю относится к более редко встречающимся видам: частота встречаемости не превышала 30%. Достоверно выше ( $p < 0,05$ ) была частота встречаемости *Candida* spp. (44,0%), что указывает на значимость дрожжеподобных грибов в этиологии МС и позволяет отнести их к дополнительным видам.

Несмотря на низкую частоту встречаемости плесневых грибов (9,6%) определена высокая ассоциативная связь их с дерматофитами, коэффициент Жаккарда составил 43,7%. Высокая ассоциативная взаимосвязь и экологическое сходство выявлено между *Tr. rubrum* с *Candida* spp. – 56,5%, следовательно данная ассоциация обеспечивает основную этиологическую структуру при МС. Значимость основных представителей возбудителей сохраняется при онихомикозах, показатель постоянства для *Tr. rubrum* был 80,9%, *Candida* spp. – 47,6%.

Сопоставление частоты встречаемости основных представителей возбудителей в зависимости от вовлеченности в процесс ногтевых пластин (наличие/отсутствие онихомикоза) позволило выделить некоторое изменение этиологической структуры, выражающееся в значительном увеличении грибов рода *Aspergillus* (23,8% против 3,7%), *Tr. rubrum* (80,9 против 64,8%), *Candida* spp. (47,6% против 42,6%), в основном находящихся в ассоциации, у больных онихомикозом. Общая частота микст-инфекции у больных ОМ<sup>+</sup> в 1,3 раза превышала, чем у больных ОМ<sup>-</sup> (57,2 против 42,6%). Изучение частоты смешанного инфицирования в зависимости от формы заболевания показало резкое возрастание ее при дистрофической форме заболевания – до 70,0% против 36,6% при сквамозной, сквамозно-гиперкератотической, 42,8% – интертригинозной.

Возрастает удельный вес оппортунистических грибов при данной форме заболевания: *Candida* spp. – до 80,0%, плесневых грибов – до 10,0%. Проанализирована роль сопутствующих заболеваний как «преморбидного» фактора. Этиологическая структура была сходной с общей группой больных. Наблюдается увеличение в 2 раза удельного веса грибов рода *Aspergillus* у больных МС с сопутствующей патологией. Несмотря на некоторую вариабельность рассмотренных показателей в зависимости от распространенности процесса, фоновых заболеваний, клинического течения сохраняется общая тенденция к сохранению этиологической структуры, включающей в основном представителей рода *Trichophyton*, *Candida* spp., грибов рода *Aspergillus*.

Таким образом, проведенные исследования показали, микоз стоп в 1/3 случаев протекает с поражением ногтевых пластин стоп и кистей, в 1,2 раза чаще регистрируемый у женщин. У более половины пациентов наблюдается множественное поражение ногтевых пластин стоп, кистей. Частота МС возрастает с увеличением возрастного диапазона и характеризуется множественностью поражения. МС по этиологической структуре характеризуются в более половине случаев полиэтиологичностью, где основная роль принадлежит *Tr. rubrum*. Одним из факторов распространенности процесса с хроническим длительным процессом с выраженными воспалительными явлениями (дисгидротическая форма) является возрастание удельного веса ассоциаций, где основным компонентом, наряду с дерматофитами выступают условно-патогенные *Candida* spp. и грибы рода *Aspergillus*, что усиливает синергический патогенный эффект каждого из ассоциантов.

## СЕБОРЕЙНЫЙ ДЕРМАТИТ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ: РОЛЬ *MALASSEZIA*

*Альбанова В.И., Калинина О.В.*

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова  
Смоленский кожно-венерологический диспансер*

Ведущим направлением в терапии Себорейного дерматита (СД) остается устранение его симптомов путём уменьшения колонизации кожи грибами и снижения воспаления. При таком подходе воздействия на ключевой фактор патогенеза СД – изменение способности желёз к салообразованию под влиянием различных экзогенных и эндогенных факторов, не оказывается. Единственным направлением в лечении, способным воздействовать на сальные железы и процессы салоотделения, может быть применение ретиноидов.

Для изучения эффективности выбранного направления в группы обследования и лечения отобрано 147 пациентов мужского пола в возрасте от 13 до 75 лет с клинически установленным диагнозом «себорейный дерматит волосистой части головы». В зависимости от способа лечения эти больные были разделены на 4 группы. 1-я группа (36 пациентов) – получала масляный раствор ретинола пальмитата по 200000 МЕ один раз в сутки на ночь. 2-я группа (36 пациентов) – наружную терапию 50 % нафталановым спиртом. 3-я группа (36 пациентов) – получала сочетанную терапию раствором ретинола пальмитата по 200000 МЕ один раз в сутки на ночь и наружную терапию 50 % нафталановым спиртом. 39 пациентов 4-й группы применяли противогрибковые средства – противосеборейные шампуни с пиритионом цинка, дёгтем, азолами.

Для анализа клинического материала была разработана индивидуальная карта пациента. При первом и последующих (через 10, 30, 45 и 60 дней) визитах проводили оценку эффективности, переносимости и безопасности терапии, динамики состояния кожи по 5-балльной шкале (0 –ухудшение; 1 – отсутствие улучшения; 2 – улучшение; 3 – значительное улучшение; 4 – выздоровление) и степени выраженности основных симптомов себорейного дерматита (шелушение, эритема, инфильтрация, зуд, экскориации) по 4-балльной шкале. Критерию «выздоровление» соответствовало отсутствие симптомов заболевания, «значительное улучшение» означало наличие остаточных признаков себорейного дерматита с тенденцией к дальнейшему улучшению, как «улучшение» оцени-

вали любой положительный сдвиг в состоянии поражённой кожи. Обострение заболевания и появление новых высыпаний на других участках расценивали как «ухудшение». Для определения времени наступления рецидива заболевания проводили клиническое наблюдение за 120 мужчинами в течение года.

Дополнительно были отобраны 42 больных и 35 здоровых (в отношении кожи волосистой части головы) мужчин для исследования жирности кожи на приборе «Soft Plus» (Callegari, Catellanigroup, Италия). Для оценки морфологических изменений, происходивших в коже волосистой части головы во время лечения были получены 32 пункционных биоптата (по 4 в каждой группе до и после лечения).

При назначении терапии исключали пациентов с индивидуальной непереносимостью или повышенной чувствительностью к компонентам препаратов, с тяжёлыми сопутствующими заболеваниями, инфекционными болезнями. При сборе анамнеза сопутствующие заболевания выявлены у 126 человек. В исследовании принимали участие только те пациенты, у которых сопутствующие заболевания были в стадии ремиссии. Из всех обследованных только у 26 мужчин до начала лечения при микроскопическом исследовании соскобов с волосистой части головы найден мицелий грибов. Общеклиническое и биохимическое исследование крови проводили у всех больных в соответствии с клиническими рекомендациями ведения пациентов с себорейным дерматитом. Изменение содержания липидов кожи головы у больных и здоровых мужчин имеет в возрастном аспекте одну и ту же направленность, но у пациентов, страдающих себорейным дерматитом, жирность кожи намного выше. Поверхностный слой эпидермиса может содержать как кислые, так и щелочные липиды. Показатель «величина рН» кожи, как и её «жирность», был также взят нами в качестве критерия для дальнейшего исследования. Жирность кожи у пациентов 4-й группы лечения изменялась мало, тогда как у пациентов, лечившихся раствором ретинола пальмитата по 200000 МЕ внутрь и нафталановым спиртом наружно раздельно и совместно, жирность кожи существенно снижалась.

У пациентов из 4-й группы после противогрибкового лечения жирность кожи продолжает оставаться высокой, не изменяются количество и размеры сальных желёз, в ацинусах преобладают терминально дифференцированные себоциты, вокруг концевых отделов выявляются лимфоцитарно-макрофагальные скопления. Сохраняются признаки акантоза и вакуолизация цитоплазмы кератиноцитов. После проведённого лечения заболевание быстро рецидивирует. Отсюда следует, что традиционная терапия шампу-

ниями обладает только симптоматическим эффектом, не затрагивая основных процессов морфогенеза сальных желёз, и в итоге не снижает интенсивность выработки кожного сала.

По нашим данным, у мужчин, страдающих себорейным дерматитом, лечение этого заболевания ретинола пальмитатом в виде монотерапии и вместе с 50 % нафталановым спиртом приводило к регрессу практически всех клинических проявлений, что подтверждено результатами анализа биопсийного материала, и давало более длительную ремиссию. На этом основании можно полагать, что медикаментозное воздействие на стадии клеточного цикла себоцитов – пролиферацию, дифференцировку и превращение в кожное сало – является морфогенетически обоснованным и поэтому целесообразным.

Итак, полученные клинические данные свидетельствуют, что лечение пациентов в течение 2 месяцев раствором ретинола пальмитата внутрь в дозе 200000 МЕ в сутки и наружное применение нафталанового спирта являются эффективным и патогенетически обоснованным способом терапии себорейного дерматита волосистой части головы у мужчин, причём наилучшие результаты достигаются при совместном применении названных лекарственных средств. Их использование не сопровождается нежелательными побочными явлениями. Независимо от вида препарата и способа его применения, вероятность возникновения рецидивов сохранялась, межрецидивный период был длиннее после совместного применения ретинола пальмитата и нафталанового спирта. Лечение противогрибковыми средствами также было эффективно, хотя продолжительного результата не достигалось, что косвенно свидетельствует о вторичности инфицирования грибами рода *Malassezia*.

## РАЗНОЦВЕТНЫЙ ЛИШАЙ И СЕБОРЕЙНЫЙ КЕРАТОЗ У ПАЦИЕНТА С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Александрова А.К., Смольяникова В.А., Тертычный А.С.  
Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Этиология и патогенез себорейного кератоза (СК) не ясны, предполагается роль генетической предрасположенности, длительной инсоляции, гормональных и иммунологических нарушений, воздействие химических канцерогенов, а также участие вируса папилломы человека. При СК выявлены нарушения клеточного цикла и пролиферации клеток на основании изучения экспрессии циклин-зависимых киназ (p16, p27, p53, p73), факторов роста, маркеров пролиферации (Ki-67). Обнаружены мутации гена третьего рецептора фактора роста фибробластов.

Представляет интерес исследование Borenstein M. и соавт. (2005) о возможной роли *Pityrosporum ovale* в патогенезе СК. Авторы исследования пришли к выводу, что СК является как бы «ответом кожи» на раздражение, вызванное грибковой инфекцией *P. ovale*, и применение системных антимикотических препаратов способно привести к уменьшению числа или полному исчезновению себорейных кератом.

Под нашим наблюдением находился пациент М, 66 лет, с жалобами на высыпания на кожи туловища и лица, сопровождающиеся умеренным зудом. После клинического осмотра был поставлен диагноз: разноцветный лишай, множественный себорейный кератоз, жирная себорея. Из анамнеза: с подросткового возраста беспокоили юношеские угри, первые себорейные кератомы появились в возрасте 25 лет на лице, постепенно распространились на кожу туловища, по краю роста волос на голове. В 2006 г. была удалена базалиома левой височной области, рецидивов опухоли не было. С 2008 года при профилактическом осмотре был диагностирован диабет II типа, ИБС, гипертоническая болезнь II ст. Пациент лечения не проводил, на диспансерном учете не состоял. Высыпания разноцветного лишая появились летом 2013 г. Аллергоанамнез не отягощен. При осмотре обращает на себя внимание повышенная сальность кожи лица, множественные атрофические рубчики постакне. По краю роста волос – многочисленные себорейные кератомы в виде как-бы «приклеенных» бляшек светло-коричневого цвета, с крошащейся

при поскабливании поверхностью, 0,3–0,5 см в диаметре. Сходные элементы имеются на коже спины, по бокам от позвоночного столба в виде «елочки», на коже живота, единичные на коже бедер. Кератомы не превышают размер более 2,5 см в диаметре, окраска варьирует от грязно-желтого до коричневого цвета. В области крупных складок имеются фиброэпителиальные полипы, нитчатые папилломы цвета кожи в небольшом количестве. Высыпания разноцветного лишая расположены преимущественно на боковых поверхностях туловища, с переходом в подмышечные области в виде сплошных слившихся пятен желтовато-коричневой окраски, с фестончатыми краями, единичные элементы расположены на коже верхней трети живота.

Обследование: общий анализ крови – без патологии, холестерин – 7,1 ммоль/л, глюкоза крови – 6,8 ммоль/л. С кожи туловища путем хирургического иссечения были взяты два новообразования.

*Заключение гистологического исследования:* себорейная кератома, гиперкератотический тип; кератопапиллома. Нитей псевдомицелия не обнаружено. После терапии интраконазолом в дозе 100 мг в сутки в течение 14 дней и наружной терапии тербинафином в виде крема 1 раз в день высыпания разноцветного лишая полностью разрешились. Элементы себорейного кератоза остались без изменений. Данное наблюдение интересно тем, что проявления разноцветного лишая локализовались на коже, не пораженной СК, что подтверждают данные гистологического исследования. В данном случае, провоцирующими факторами для развития и распространения грибковой инфекции можно считать нарушение толерантности к глюкозе и жирную себорею.

Проведенное антимикотическое лечение не дало никаких видимых клинических результатов со стороны СК, тогда как высыпания разноцветного лишая регрессировали полностью. Таким образом, учитывая вышесказанное, роль *P. ovale* в возникновении и распространении себорейного кератоза в нашем исследовании не подтвердилась, однако провоцирующие факторы, в частности, инсулинорезистентность, могут быть одинаковы для развития данных кожных заболеваний.

## ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ (PCO – АЛАНИЯ)

Бедоева З.Р., Базаев В.Т.

Северо-Осетинская Государственная медицинская академия  
Росздрава, Владикавказ

**Актуальность.** Дерматомикозы волосистой части головы являются весьма распространенными среди микозов, особенно в детской возрастной группе. Они представляют собой одну из медико-социальных проблем здравоохранения. Несмотря на большой объем проводимых лечебно-профилактических мероприятий заболеваемость микозами волосистой части головы продолжает оставаться достаточно высокой. Источниками заражения людей чаще всего являются: контакт с больным человеком, предметы обихода и личной гигиены, кошки, собаки. Воспалительные явления бывают более выражены, когда этиологическим фактором являются зоофильные грибы. Идентификация возбудителя важна, т.к. влияет на длительность прием антимикотических препаратов.

**Цель исследования.** Проанализировать видовой состав возбудителей дерматомикозов волосистой части головы в 2014 г. в PCO –Алания.

**Материалы и методы.** Диагноз «микоз волосистой части головы» выставлялся по клиническим признакам с одновременным выявлением дерматомицета при микроскопии и культуральном исследовании пораженных волос и чешуек кожи из очага поражения.

**Результаты.** Из 84 обследованных пациентов микроспория была выявлена в 48 случаях (57%), трихофития – в 36 случаях (43%). Среди возбудителей микроспории были выявлены: *Microsporum canis* – 95%, *Microsporum ferrugineum* – 4,5%, *Microsporum gypsum* – 0,5%. При трихофитии волосистой части головы наиболее часто выявлялся *Trichophyton mentagrophytes* – в 82 % случаев; *Trichophyton verrucosum* – в 8%, *Trichophyton violaceum* – в 6%, *Trichophyton tonsurans* – в 4%.

**Выводы.** В этиологии микозов волосистой части головы в PCO-Алания преобладают зоофильные грибы: *M. canis* и *T. mentagrophytes*.

## СЛУЧАИ ФАВУСА НА ЮГЕ РОССИИ

Гаджимурадов М.Н.

Дагестанская Государственная медицинская академия МЗ РФ, Махачкала

Фавус (или парша) вызывается грибом *Trichophyton schoenleinii*, относящимся к атропофильным дерматомицетам. Впервые заболевание описано в 1839 г. Schoenlein. В настоящее время на территории Российской Федерации заболевание практически ликвидировано, встречаются единичные случаи [1]. Способствуют развитию микоза эндокринопатии, иммунодефицитное состояние (ВИЧ), гиповитаминозы, сопутствующие хронические заболевания, интоксикации, микротравмы. Возможна лимфогематогенная диссеминация гриба в организме (поражение внутренних органов), поражение лимфатических узлов (как правило шейных и реже заушных) [2]. При фавусе обычно поражаются волосы, кожа, ногтевые пластинки, в 41–88% лимфатические узлы. Описаны тяжелые висцеральные формы с поражением легких, костей, желудочно-кишечного тракта, ткани мозга [3]). Течение заболевания, его клинические формы некоторые ученые связывают не только с источником возбудителя, но и с состоянием кожи. Так, прививка одного штамма фавозного гриба давала различные формы заболевания [4].

Для *Trichophyton schoenleinii* характерна невысокая контагиозность. Зафиксирован случай сороколетнего течения фавуса волосистой части головы у пожилой женщины, члены семьи которой (дочь и внука) не инфицированы [3]. С учетом нарастания миграционных процессов на постсоветском пространстве, из сопредельных государств с неблагополучной эпидемиологической ситуацией, распространением ВИЧ, – следует ожидать возникновения локальных очагов фавуса на территории России.

Идентифицируют фавус волосистой части головы, гладкой кожи, ногтей и внутренних органов. Различают типичную (скутулярную) форму и атипичные: сквамозная, импетигиозная, инфильтративно-нагноительная (фолликулярная, трихофитоидная), гранулематозная. В типичных случаях фавус характеризуется появлением так называемых скутул (или фавозных шитков) диаметром 1–3 см (рис. 1). Возникают они на месте внедрения гриба – вокруг волоса появляется эритематозное пятно, затем инфильтрат и желтая пустула в центре (без жидкого содержимого). Диаметр очага увеличивается по периферии, края возвышаются над уровнем кожи.

Очаг представляет собой плотно спаянные с кожей корки желтого цвета и состоит из разрушенных кератиноцитов, высохшего эксудата и гиф гриба [1]. Достигнув определенной величины, скутула растрескивается (лишается роговой оболочки), грибковые массы под влиянием воздуха меняют цвет на серовато-белый и разрыхляются, преобразуясь в массу чешуек серовато-белого цвета. Под сформировавшейся скутулой (если приподнять пинцетом) наблюдается воронкообразное вдавление розово-красного цвета (рис. 2). От скутул исходит «мышинный» (затхлый, амбарный) запах за счет метаболитов сопутствующей микробной флоры [5].

Через несколько месяцев характерным изменениям подвергаются и волосы. Волосы теряют блеск, становятся «запыленными», но не обламываются. На участках с длительно существующими скутулами они гнездообразно выпадают. Эти прогалины чередуются с гнездами поредевших волос – картина меха, потравленного молью. В РКВД МЗ Республики Дагестан обратился юноша 18 лет из отдаленного высокогорного села с запущенным случаем парши, при котором отмечалась рубцовая атрофия кожи с блестящей, розовой, затем белой поверхностью и атрофией фолликулярного аппарата (сплошное облысение) (рис. 3).

При сквамозной форме скутул не бывает или они точечные. На первый план выступает обильное шелушение серовато-белых плотно прилегающих чешуек, сплошь покрывающих гиперемизированную кожу. Волосы теряют блеск, становятся матовыми, редеют и в итоге более или менее отчетливая атрофия кожи. Мы наблюдали женщину 41 года со сквамозной формой фавуса (рис. 4), которая с детства отмечает шелушение волосистой части головы. Последние 8–9 лет наблюдает у себя поредение волос.

Импетигинозная форма встречается у детей. На пораженных участках видны немногочисленные массивные желтоватого цвета слоистые корки, напоминающие корки соименного пиодермита, но более сухие. На фавус указывает в таких случаях длительное течение и исход атрофическим рубцом. При инфильтративно-нагноительной форме наблюдаются керион подобные образования. В этом случае микроскопическое исследование волос с внутренней поверхности корок позволит провести дифференциальную диагностику с зоонозной формой трихофитии (рис. 5). Без микроскопии волоса и выделения культуры гриба трудно дифференцировать фавозную гранулему от аналогичной формы трихофитии.

При заражении от животных и птиц преимущественно развивается парша гладкой кожи, которая манифестирует красной бляшкой



1. Скутулы
2. Розово-красное воронкообразное вдавление под сформировавшейся скутулой.
3. Сплошной участок облысения.
4. Сквамозная форма фавуса
5. Зоонозная форма трихофитии – керион Цельса.

с везикулезными элементами по периферии. В процессе развития появляется фавозный шиток, как правило связанный с пушковым волосом, и заболевание принимает хроническое течение. Такой очаг чаще локализуется на коже лица, конечностей и век: причем в последнем случае в результате атрофии может развиваться энтропион.

У детей, пациентов с иммунодефицитным состоянием иногда возникает генерализованная форма фавуса. Процесс распространяется по всему кожному покрову; скутулы сливаются, достигая больших размеров, а под ними образуются глубокие изъязвления. Может

нарушаться и общее состояние пациента, возникать поражения легких, пищеварительного тракта, вещества и оболочек головного мозга, опорно-двигательного аппарата. Диагноз основывается на выделении культуры возбудителя.

В терапии фавуса препаратами выбора являются: гризеофульвин из расчета 15 мг на 1 кг массы тела больного в сутки, ламизил, орунгал. Волосы стригут и проводят местную йодно-мазевую терапию, витаминотерапию.

Приведенные в статье наблюдения и обзор литературы позволят дерматовенерологам акцентировать внимание на клинических особенностях фавуса. Это актуально и в связи с сохранившимися очагами парши в отдалённых, труднодоступных населённых пунктах России, а также возможностью ее завоза мигрантами из сопредельных государств.

### Список литературы

1. Тимошенко Н.А., Медведева Т.В., Шурницкая О.А. Случай выделения редкого возбудителя микоза. Совр. микол. в России. 2012; 3: 490-491.
2. Аравийский А.Н. Некоторые избранные вопросы фавозного процесса. Вестн. дерматол. венерол. 1937; 3: 295-303.
3. Рукавишникова В.М., Куколева А.И. Случай фавуса. Вестн. дерматол. венерол. 1979; 5: 57-60.
4. Шварцблат А.М. Случай распространенного хронического фавуса кожи и ногтей. Вестн. дерматол. венерол. 1940; 5: 49-52.
5. Скрипкин Ю.К., Мордовцев В.Н. Кожные и венерические болезни. Руководство для врачей. Том 1. М. 1999: 879 с.
6. Григорьев П.С. Учебник венерических и кожных болезней. М.-Л., 1938: 740 с.

## ИММУННЫЙ СТАТУС У ДЕТЕЙ С ЗООАНТРОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ

Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р., Даниленко Р.У.

БГМУ МЗ РФ, Уфа

Цель исследования – установить показатели иммунного статуса у детей с инфильтративными и нагноительными формами зооантропонозной трихофитией. Отмечено формирование нейтрофильного лейкоцитоза, при этом увеличение содержания нейтрофилов у больных с обеими формами микоза в крови выявлялось достоверное возрастание содержания Ig “первичного иммунного ответа” IgM и IgG, включающих в себя большую часть разнообразных “анамнестических антител”. В фагоцитарном звене иммунитета у всех больных имело место достоверное снижение содержания среди нейтрофилов крови числа активных фагоцитов, чему сопутствовало также достоверное возрастание среди них клеток с неиндуцированной активацией кислородзависимого метаболизма, определяемой в спонтанном НСТ-тесте (один из косвенных признаков присутствия в организме воспалительного процесса).

В ходе серологического типирования лимфоцитов крови больных выявлено увеличение концентрации зрелых периферических лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>-клетки), достоверное у пациентов с нагноительной формой трихофитией. Изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов при этом характеризовались незначительным возрастанием числа хелперов/индукторов (CD4<sup>+</sup> – Т-лимфоциты), несколько большим – цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>-клетки) и снижением величины иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> -лимфоцитов), достоверно выраженного у больных с нагноительной формой заболевания. Кроме того, среди лимфоцитов крови больных как инфильтративной, так и нагноительной формами заболевания отмечено увеличение клеток с экспрессией одного из маркеров их активации – HLA-DR. Концентрация в крови ведущих цитокинов у больных инфильтративной и нагноительной трихофитией возрастала в сходной степени: провоспалительных (ФНО-α, Интерлейкин-1β и Интерферон-γ – в 4 – 6 раз, а противовоспалительного Интерлейкина –4 – в 2 раза.

Результаты исследования полезны для разработки адекватных методов патогенетической терапии в зависимости от клинической формы зооантропонозной трихофитии.

## АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИКИ МИКРОСПОРИИ

Карабаева И. Т.

Республиканский СНПМЦ дерматологии и венерологии МЗ РУз,  
Ташкент, Узбекистан

Зооантропонозная микроспория, при которой поражаются гладкая кожа, волосистая часть головы и очень редких случаях ногти, является одним из распространённых грибковых заболеваний во многих странах мира, в том числе и странах СНГ [1, 2, 3, 4, 7].

По данным литературы сегодня микроспория получила распространение даже в регионах с высокой заболеваемостью трихофитией. Так в Башкортостане, Таджикистане, Туркменистане, Казахстане, где ранее наблюдались единичные случаи микроспории, сегодня они составляют до 83 – 99% всех грибковых заболеваний с поражением волос [2, 3, 4, 7]. Анализ регистрации заболеваемости по Республике за последние 5 лет показал, что отмечается рост интенсивного показателя от 1,3 (в 2009 г.) до 2,6 (в 2013 г.) на 100 тыс. населения [1]. Тревожной сохраняется ситуация по заболеваемости микроспорией среди детского контингента. Так из общего количества больных микроспорией дети до 14 лет составили в 2009 году – 59,5%, в 2010 г. – 62,7%, в 2011 г. – 61,5%, в 2012 г. – 56,8%, в 2013 г. – 51,9%. [1]. В Узбекистане рост инфекций, вызываемых *Microsporium canis* отмечается с 70-х годов. Так, если из всех культур микроспорумов в 1975 г. на долю *Microsporium canis* приходилось только 3,2 %, а 1989 до 32%, то в 1995 – 2000 гг. его доля увеличилась до 44%. Одной из причин роста заболеваемости микозом является несвоевременность диагностики микроспории в результате изменения эпидемиологии и клиники инфекции в последние годы.

В современных условиях клиническое течение микозов отличается значительным полиморфизмом, возрастанием количества стертых, субклинических и рецидивирующих форм [3, 4, 5, 6, 8]. Исходя из вышеизложенного, представляется важным в научном и практическом плане изучить клинико-эпидемиологические особенности микроспории в последние годы.

В период с 2009 – 2013 гг. обследованы 300 больных микроспорией, госпитализированных в отделение микологии Республиканского центра дерматологии и венерологии МЗ Руз. Наибольшее количество больных микроспорией было госпитализировано осенью – 112(37,4%), 87 (29%) – зимой, 61 (20,3%) – весной и летом 40 (13,3%).

Полученные данные подтверждают наличие определенной сезонности в заболеваемости микроспорией. Сезонные особенности эпидемического процесса обусловлены сезонностью эпизоотии микроспории среди основных источников микроспории – кошек, природно-климатическими условиями и сезонными миграционными изменениями жизни населения.

Оценивая возрастной состав больных, отмечено, что подавляющая часть больных была в возрасте от 4 до 14 лет – 242 человек (65,3%). Как видно из представленных данных, в последние годы микроспория стала чаще встречаться у взрослых, которые раньше болели в исключительных случаях и у детей менее одного года, что ранее считалось казуистикой. Установлено, что микроспория чаще встречалась среди лиц мужского пола – 188 (62,7%), чем среди женского – 112 (37,3%).

Таблица 1. Распределение больных микроспорией по возрасту

Возраст	До 1 года	1-3 года	4-7 лет	8-11 лет	12-14 лет	15-17 лет	Старше 18 лет
Количество больных	2	37	93	103	36	7	22

По давности заболевания больные были распределены следующим образом: у 226 (75,4%) больных была от 2 недель до 1 месяца, у 60 (20%) – составляла 1,5 – 3 мес, у 10 (3,3%) – 4–6 мес, у 3 (1%) – от 7 мес до 1 года и у 1 (0,3%) более 1 года.

Микроспория волосистой части головы диагностирована у 136 (45,3%), микроспория гладкой кожи – у 82 (27,3%), смешанная форма (волосистая часть головы и гладкая кожа) – у 82 (27,3%). Из 164 (54,6%) больных со смешанной формой микроспории у 8 (9,7%) наряду с поражением волосистой части головы заболевание протекало с вовлечением в микотический процесс щетинистых волос бровей и у 2 (1,2%) – ресниц. У 2 (2,4%) больных наблюдалось поражение лобковой области.

Источники инфицирования выявлены у 294 (98%) больных, у 6 (2%) – не установлены. До 165 (55%) больных микроспорией приходилось на членов семьи. В семье, как правило, заражение происходило от больного животного. Анализ источников заражения микроспорией показал, что основным источником заражения являются бродячие животные кошки, котята – в 95% случаев, затем

собаки в 5% случаев. Антропонозная форма наблюдалась у 6 (2%) больных. Заражение от сексуальных партнеров отмечалось у 3 (1%) больных, при этом высыпания локализовались на гениталиях, лобке, бедрах, животе. При культуральном исследовании в посеве в 54% (162) случаях получен изолированный рост культуры грибов, при этом *Microsporium canis*, выделен в 154 (95%) больных, *Microsporium ferrugineum* – в 5 (3%) и *Microsporium gypseum* – в 3 (1,9%) случаях.

Типичная клиническая картина микроспории волосистой части головы и гладкой кожи выявлена у 252 (84%) больных.

Для типичной клинической картины микроспории гладкой кожи, вызванной *Microsporium canis*, было характерно появление резко ограниченных пятен, правильно округлой или овальной формы размером от 1,0 до 3,0 – 4,0 см в диаметре с четкими границами, с слегка приподнятыми краями представленными, отдельными пузырьками, серозными корочками, чешуйками. Центральная часть бледно-розового цвета с отрубевидным шелушением. В 37% (62 больных) случаев в процесс вовлекались пушковые волосы.

На волосистой части головы обычно наблюдались единичные, крупные очаги правильно-округлых или овальных очертаний размером от 2,0 – 4,0 до 6,0 – 8,0 см в диаметре, покрытые серыми асбестовидными чешуйками со слабовыраженными воспалительными явлениями кожи. В очагах поражения наблюдались обломанные волосы на уровне 5 – 8 мм. Одним из характерных эпидемиологических особенностей микроспории в настоящее время является учащение случаев заболеваемости данным микозом среди детей раннего возраста и у взрослых старше 18 лет.

Микроспория детей раннего детского возраста, в том числе новорожденных (0 – 3 года) выявлена в 39 (13%) случаев. При этом на волосистой части головы, как правило, появляются множественные эритематозно-сквамозные очаги с обломками волос и характерным шелушением. Очаги на гладкой коже носили эритематозно-сквамозный характер, без специфического валика, напоминая себорейный дерматит или аллергические высыпания.

Микроспория взрослых (18 лет и выше) – наблюдалась в 22 (7,3%) случаях. Очаги при этом локализовались на туловище, в виде эритематозно-сквамозных высыпаний напоминая параспориоз, псориаз. В одном случае очаги микроспории располагались в лобковой области и напоминали клиническую картину зооантропонозной трихофитии. Клинические наблюдения позволили среди 300 наблюдаемых нами больных выявить атипичные формы микроспории у 48 (16%) больных.

Трихофитоидные формы микроспории выявили у 19 (39,6%) больных, когда очаги микоза были представлены мало шелушащимися, нерезко воспалительными или гипопигментными пятнами. Границы очагов поражения, как правило, были нечеткими, очертания расплывчатыми. На волосистой коже головы такая форма проявлялась диффузным или очаговым шелушением, выпадением и изреженностью волос, обычно тусклых, обломленных на разных уровнях. Для нее было характерно вялое, хроническое течение, продолжаясь от 6 месяцев и более.

Глубокие (инфильтративно-нагноительные) формы микроспории диагностированы у 21 (43,8%) больных.

Инфильтративно-нагноительные очаги микоза представлялись крупными, сливными, возвышающимися над кожей очагами на волосистой части головы. Они располагались на коже лобковой области у взрослых. Это были обычно конгломераты из слившихся и нагноившихся болезненных фолликулов, перифолликулитов. Их поверхность была покрыта грубыми гнойными корками со склеенными волосами. При удалении корок и волос, из зияющих отверстий волосяных фолликулов выделялся гной. В очагах поражения волосы были обломаны на различных уровнях от здоровой кожи (4–5 мм) и напоминали клинику зооантропонозной трихофитии. На гладкой коже очаги были округлой формы размером от 2,0 x 3,0 см в диаметре до детской ладони с четкими границами и характерным периферическим валиком состоящий из мелких микровезикул и пустул. Кожа в очагах поражения была несколько отечна, инфильтрирована, гиперемирована

Регионарные лимфоузлы были увеличены, болезненны. У отдельных больных наблюдались выраженные симптомы интоксикации, аллергические высыпания. Диагноз микроспории, у этой группы больных был уточнен после получения культуры гриба и свечения под лампой Вуда. У 3 больных с инфильтративно-нагноительной формой микроспории свечения под лампой Вуда не определялось, но была получена культура гипсового микроспорума.

Папуло-сквамозная или псориазиформная форма микроспории регистрировалась у 4 (8,3%) больных. Высыпания, как правило, располагались на гладкой коже лица, груди, боковых поверхностях туловища. Очаги состояли из папул, со склонностью сливаться в бляшки с полициклическими очертаниями, на поверхности которых отмечается выраженное шелушение и небольшая инфильтрация.

Эритематозно-отечная или себорейная форма микроспории диагностировалась у 4 (8,3%) больных. Это преимущественно дети

раннего детского возраста, включая новорожденных. В этих случаях очаги микоза локализовались преимущественно на себорейных участках кожи лица. Очаги поражения на гладкой коже у этих больных обычно диссеминированные, множественные, мелкие, ярко-красного цвета округло-овальной иногда неправильной формы размером от 1,0х2,0 см до 3,0–5,0 см в диаметре. В некоторых очагах границы размытые, периферический валик отсутствует. На поверхности очагов наблюдалось шелушение жирными чешуйко-корками.

Таким образом, проведенный анализ показал, что микроспория встречается часто, преимущественно среди мальчиков от 4 до 14 лет. На заболеваемость микроспорией влияет сезонность. Основным источником заражения являются кошки. Возросла частота регистрации атипичных форм заболевания. Данные необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактических и других мероприятий, направленных на снижение заболеваемости микроспорией.

### Список литературы

1. Абидова З.М., Рахимов И.Р. Ситуация по дерматомикозам в Республике за 2009–2013 гг. Дерматовенерол. эстет. мед. Ташкент. 2014; 1: 172–173.
2. Егизбаев М.К., Тулепова Г.А. Анализ заболеваемости заразно-кожными заболеваниями в Южно-Казахстанской области Республики Казахстан за 2000–2004 гг. Усп. мед. микол. 2006; 8: 9–10.
3. Исаева Т.И. Клинико-эпидемиологические и медико-социальные аспекты микроспории в различных климатогеографических условиях. Автореф. дисс. М. 2009. 19 с.
4. Новикова Л.А., Бахметьева Е.М. Сравнительный анализ и клинико-эпидемиологические особенности дерматомикозов среди детского населения г. Воронежа. X Кашкинские чтения. Тез. докл. 2002: 83.
5. Рукавишников В.М. Современные особенности клиники и лечения микроспории. Лечащий врач. 2001; 4: 1–11.
6. Степанова Ж.В. Клинические особенности и лечение микроспории в современных условиях. Вестн. дерматол. венерол. 2008; 6: 85–88.
7. Фахретдинова Х.С., Медведева Е.А. Динамика дерматомикозов в республике Башкортостан в 1983–2003 гг. Пробл. мед. микол. 2004; 6(2): 124–125.
8. Федотов В.П., Каденко О.А. Актуальные проблемы эпидемиологии и лечения микроспории у детей. Соврем. микол. в России. 2002; 1: 325.

## МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ИНФИЛЬТРАТИВНО-НАГНОИТЕЛЬНОЙ ТРИХОФИТИИ ЛОБКОВОЙ ОБЛАСТИ ПРЕПАРАТОМ ЦИКЛОПИРОКСОЛАМИНА

Хамидов Ф.Ш.

Андижанский Государственный медицинский институт,  
Андижан, Узбекистан

Местное лечение инфильтративно-нагноительной трихофитии проводят различными мазями (ихтиоловая мазь, линимент Вишневского), в том числе фунгицидными кремами.

**Цель исследования:** изучить клиническую эффективность 1%-ного крема микостер у больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области.

**Материал и методы исследования.** Под нашим наблюдением было 22 больных (8 женщин, 14 мужчин) инфильтративно-нагноительной трихофитией, в возрасте от 18 до 32 лет. У всех больных была диагностирована инфильтративно-нагноительная трихофития лобковой области. Всем больным инфильтративно-нагноительной трихофитией во время комплексной терапии назначали микостер крем (активное вещество – циклопирокса оламин). Микостер 1% (циклопирокса оламин) – противогрибковый препарат, относящийся к группе пиридона. Циклопироксаоламин является противогрибковым средством с широким спектром, который активен в отношении дерматофитов (*Trichophyton*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton*), дрожжей (*Candida*, *Torulopsis*, *Trichosporum*, *Geotrichum*), плесени (*Scopulariopsis*, *Aspergillus*), актиномицетов и бактерий. Механизм действия крема Микостер заключается в ингибировании синтеза протеинов, рибонуклеиновой кислоты и дезоксирибонуклеиновой кислоты грибковых клеток в период роста.

Фунгицидная активность циклопирокса оламина основывается на ингибировании поглощения грибковыми клетками определенных веществ (металла, фосфата и ионов калия) необходимых для их метаболизма и роста.

1%-ный крем микостер наносили на поврежденные участки кожи тонким слоем 2 раза в день. Длительность курса составляла 2–4 нед, в зависимости от выраженности клинических проявлений. Потом для предотвращения рецидива препарат назначался один раз в день в течение 28 дней.

**Результаты исследования.** У всех 22 больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области после применения крема микостер, рассасывание инфильтратов в очагах поражения начиналось на  $7,3 \pm 0,3$  день лечения. Краснота и отек начинали исчезать на  $8,5 \pm 0,2$  день терапии, зуд в очаге уменьшилось на  $3,1 \pm 0,2$  день. На патологическом очаге после начала лечения в очаге образовывались гнойные корки, в дальнейшем заживлением очагов поражения. У всех больных после применения микостер нежелательных явлений не было отмечено. К концу комплексного лечения выздоровление была отмечена у 21 (95,5%) больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области.

**Вывод.** Крем микостер высокоэффективен в терапии инфильтративно-нагноительной трихофитии лобковой локализации, во время применения этого препарата не было отмечено системных и местных побочных эффектов.

## ТЕРАПИЯ ИНФИЛЬТРАТИВНО-НАГНОИТЕЛЬНОЙ ТРИХОФИТИИ КОМБИНИРОВАННЫМ АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ

*Хамидов Ф.Ш.*

*Андижанский государственный медицинский институт,  
Андижан, Узбекистан*

**Цель исследования:** изучить клиническую эффективность раствора «дермобактер» у больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области.

**Материал и методы исследования.** Под нашим наблюдением было 23 больных (5 женщин, 18 мужчин) инфильтративно-нагноительной трихофитией, в возрасте от 18 до 35 лет. У всех больных была диагностирована инфильтративно-нагноительная трихофития лобковой локализации. У 20 пациентов, заболевание развилось после полового контакта, только трое больных не смогли объяснить появление трихофитии в лобковой области. У больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области во время терапии, кроме стандартного лечения (фунгицидные препараты и др.), для снятия мокнутия местно был применен охлажденный раствор «дермобактер» в разведении 1 : 2 (для разведения применялся дистиллированная вода). Раствор применялся 5–8 раз в день, в виде влажных повязок в течении 1–3 дней. В последующем, местно на очагах поражения применялся противогрибковые кремы.

**Результаты исследования.** У всех 23 больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области после применения раствора, высыхание очагов поражения отмечалось на  $3,1 \pm 0,3$  день лечения. Краснота и отек исчезали на  $4,6 \pm 0,4$  дни терапии. Зуд в очаге уменьшились на  $3,2 \pm 0,01$  день. На патологическом очаге после высыхания мокнущего очага образовывались корки, в дальнейшем на зажившем месте образовывались эрозии, гнойные корки. У всех больных после применения раствора, нежелательных явлений как местно, так и повсеместно не было отмечено. К концу комплексной терапии клинический эффект был отмечен у 20 (87%) больных инфильтративно-нагноительной трихофитией лобковой области.

**Вывод.** Препарат оказался высокоэффективным средством, его можно применять для лечения мокнущих очагов поражения при инфильтративно-нагноительной трихофитии лобковой области. Препарат не имеет побочных действий местного и системного характера.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРИХОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ

Корнишева В.Г.

СЗГМУ имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Микоз волосистой части головы – это поражение волос и кожи волосистой части головы дерматомицетами родов *Microsporum*, *Trichophyton*. При распространении инфекции эти грибы поражают гладкую кожу и ногти. Инфекция начинается с прорастания мицелием рогового слоя перифолликулярной области. Дерматомицеты по-разному поражают волосы, что является основным диагностическим признаком микоза. Различают два типа поражения: *ectothrix* и *endothrix*. Для *ectothrix* характерно основное нахождение спор снаружи волоса, для *endothrix* – внутри волоса. Тип *ectothrix* подразделяется на мелкоспоровый (размер спор – 2 – 3 мкм) и крупноспоровый (размер спор 5 – 1 мкм). Мелкоспоровый *ectothrix* характерен только для грибов рода *Microsporum*. Крупноспоровый *ectothrix* – для грибов рода *Trichophyton*. В нашей стране основным возбудителем микозов волосистой части головы является *M. canis*.

Микроспория – это микоз кожи, волосистой части головы, ногтей (очень редко), возбудителями которой являются следующие группы грибов рода *Microsporum*: антропонозные (*M. ferrugineum*, *M. audouinii*), зоонозные (*M. canis*, *M. distortum*), геофильные (*M. gypseum*, *M. nanum*). При микроскопии пораженного волоса обнаруживаются мелкие споры внутри волоса, расположенные группами, мозаично и снаружи в виде муфты из спор. В кожных чешуйках – септированный мицелий.

Из грибов *Microsporum* наиболее часто вызывает поражение волосистой части головы *M. canis*. Инкубационный период при зооантропонозной микроспории составляет – 1–2 нед, после чего на месте заражения появляется очаг шелушения. В первые дни после заражения возбудитель локализуется в устье волосного фолликула. К концу недели на волосистой части головы появляются 1–2 крупных, круглых или овальных, четко очерченных очага с гиперемией и муковидным шелушением. Все волосы в очаге обломаны на одном уровне (5–8 мм) и выглядят как бы подстриженными. Обломанные волосы белые – из-за муфты из спор, легко выдергиваются. Под люминесцентной лампой пеньки волос светятся светло-зеленым. К атипичным формам микроспории волосистой части головы относят

инфильтративную, нагноительную, экссудативную, трихофитоидную, себорейную формы. К развитию атипичных форм микроспории приводит несвоевременная диагностика, неадекватная терапия, что способствует дальнейшему изменению клинической картины, хронизации процесса, развитию в дальнейшем рубцовой алопеции и распространению инфекции. При трихофитоидной форме микроспории на волосистой части головы имеются многочисленные мелкие очаги со слабым отрубевидным шелушением. Границы очагов нечеткие, волосы обломаны на уровне 1–2 мм над уровнем кожи. Наряду с обломанными встречаются здоровые волосы. Эта форма микроспории встречается у детей старше 10 лет, которым длительно проводилось самолечение очагов.

Для подтверждения диагноза микроспории используются люминесцентное, микроскопическое и культуральное исследования. Важное диагностическое значение имеет люминесцентный метод, который используют для 1) определения пораженных волос; 2) оценки результатов лечения; 3) контроля за контактными лицами; 4) определения наличия инфекции или миконоительства у животных.

Люминесцентное исследование основано на выявлении при использовании лампы с фильтром Вуда (340–450 нм) светло-зеленого свечения пеньков, пораженных *M. canis*, изумрудно-зеленого свечения при поражении волос *M. ferrugineum* и голубоватой флюоресценции пораженного спорам *T. schoenleinii* волоса при фавусе. При обследовании свежих очагов микроспории свечение волос может отсутствовать, что связано с недостаточным поражением волоса. Это часто встречается у детей первых месяцев жизни. В таких случаях волосы следует эпилировать, и свечение можно обнаружить в их корневой части. Свечение пораженных волос может отсутствовать у детей старше 10 лет в том случае, когда в течение длительного времени занимались самолечением очага. В результате клиника приобретает атипичную картину (трихофитоидная форма). При микроскопии волоса обнаруживается поражение волоса по типу «крупноспорового эндотрикса», культурально – *Microsporum canis*. Культуральное исследование патологического материала является золотым стандартом, но имеет длительный период ожидания.

В настоящее время дерматоскоп или видеодерматоскоп стали незаменимы в дифференциальной диагностике заболеваний волос и кожи волосистой части головы. Современные трихоскопические исследования направлены на изучение следующих групп поражений: (1) нерубцовые алопеции, (2) рубцовые алопеции, (3) поражение стержня волоса и (4) дерматозы волосистой части головы.

Видеодерматоскопия и трихоскопия волос и кожи головы, являясь неинвазивным диагностическим методом, набирает популярность в качестве ценного инструмента в дифференциальной диагностике выпадения волос и позволяет распознавать морфологические структуры не видимые невооруженным глазом. Этим методом исследуют волосы и кожу головы при увеличении  $\times 20 - \times 160$  [1, 2].

В течение последних лет выявлены трихоскопические особенности трихомикозов. Трихоскопия является современным методом, который может быть использован в скорейшей дифференциальной диагностике трихомикозов с гнездной алопецией [1–5]. Основным трихоскопическим признаком микозов волосистой части головы является обнаружение обломанных волос в виде запятой (comma hair), которые встречаются, как при поражении волос *ectothrix*, так и при *endothrix*. Пеньки волос в виде запятой выявлялись у больных с инфекциями, обусловленными *M. canis*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *M. langeronii*, *T. soudanense*[3].

Штопороборазные волосы встречаются у лиц с темной кожей и являются высокоспецифическим признаком для микотического поражения. К неспецифическим трихоскопическим симптомам при трихомикозах следует отнести обломанные волосы, черные точки, зигзагообразные волосы. При микотическом поражении волос не встречаются желтые точки и обломанные волосы по типу восклицательного знака, пушковые волосы, которые характерны для гнездной алопеции [4, 5]. Использование при трихоскопии режима УФ-света может выявить флуоресценцию пеньков волос, обусловленную грибами, и ускорить диагностику [3].

### Список литературы

1. Miteva M, Tosti A. Hair and scalp dermatoscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2012; 67(5): 1040-8.
2. Lencastre A, Tosti A. Role of trichoscopy in children's scalp and hair disorders. *Pediatr Dermatol.* 2013; 30(6): 674-82.
3. Rudnicka L, Olszewska M., Rakowska A., Slowinska M. Trichoscopy update 2011. *J Dermatol Case Rep.* 2011; 4: 82-8.
4. Ekiz O, Sen BB, Rifaioğlu EN, Balta I. Trichoscopy in paediatric patients with tinea capitis: a useful method to differentiate from alopecia areata. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014; 28(9): 1255-8.
5. El-Taweel AE, El-Esawy F, Abdel-Salam O. Different Trichoscopic features of tinea capitis and alopecia areata in pediatric patients. *Dermatol Res Pract.* 2014.: Article ID 848763, 6.

## К ВОПРОСУ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ

*Кудава Х.Т, Твалишвили Г.М., Китуашвили Т.А.*

*НИНЦ дерматологии и венерологии, Тбилиси, Грузия*

Клинические проявления микозов волосистой части головы являются одним из важных и актуальных вопросов микологии. Часто манифестация этого заболевания очень типична, а иногда бывает атипичной и является поводом диагностических ошибок.

**Цель исследования** – выявление распространенных форм микозов волосистой части головы и изучение особенностей их клинических проявлениях в нашей стране.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось в Научно-исследовательском национальном центре дерматологии и венерологии Грузии. Обследованно 189 пациентов в возрасте от 1 до 14 лет. При проявлении клинических симптомов диагноз был подтвержден микроскопическими и культуральными исследованиями. Дополнительно было использовано люминесцентное обследование. Клинические проявления разделяли на воспалительные и невоспалительные поражения. В воспалительную группу входили керион Цельса и сгруппированные фолликулиты. В невоспалительную группу поражения объединили серые пятна с единичными очагами повреждения, себорейные формы и черноточечный дерматофитоз.

**Результаты.** Из количественных данных клинических форм было выявлено всего 92 случая воспалительных форм, из них 78 – керион Цельса, а 14 – сгруппированные фолликулиты. Невоспалительные формы наблюдали в 97 случаях, из которых 74 были серые пятна с единичными очагами повреждения, 15 – себорейные формы и 8 – черноточечный дерматофитоз. Процентные данные распределились следующим образом: воспалительные формы – 48,7%, невоспалительные формы – 51,3%. Керион Цельса составлял 41,3%, серые пятна с единичными очагами повреждения – 39,2%, себорейные формы – 7,9%, сгруппированные фолликулиты – 7,4% и черноточечный дерматофитоз – 4,2%.

**Вывод.** Количество невоспалительных форм незначительно превышает воспалительные. Самыми распространенными клиническими формами микозов волосистой части головы в Грузии являются керион Цельса и серые пятна с единичными очагами повреждения.

## СЛУЧАЙ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕДКОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ МИКРОСПОРИИ

Медведева Т.В., Чилина Г.А.

НИИ медицинской микологии имени П.Н. Кашкина СЗГМУ,  
Санкт-Петербург

**Наше наблюдение.** Девочка 6 лет, обращение в консультативно-диагностическое отделение НИИ медицинской микологии 8 декабря 2014 г. с жалобами на появление пятна на правом предплечье. Больна 2 нед, заболела во время пребывания на острове Тенерифе (Канарские острова, Испания), где посещала питомник, в котором содержались лемуры. При осмотре: в средней трети правого предплечья имеется эритемато-сквамозный очаг диаметром в 1 см с четкими границами, несколько возвышающийся над поверхностью кожи. При осмотре под лампой Вуда – специфическое свечение отсутствовало.

Проведены стандартные микологические тесты: при микроскопии кожных чешуек – обнаружены нити септированного мицелия гриба. Результат культурального исследования: колония быстро-растущая, порошистая, песочного цвета, края белые, пушистые; на поверхности колоний – капли экссудата желтого цвета. При микроскопии культуры гриба обнаружено обилие макроконидий, микроконидии отсутствуют; макроконидии имеют сигарообразный вид, тонкостенные, на конце - закруглены; 3 – 7 клеточные, размером 8,5 – 9,1 x (43 – 60) мкм. Полученная культура определена как культура *Microsporium persicolor*.

Установлен диагноз: «Микроспория гладкой кожи, вызванная *Microsporium persicolor*».

При проведении наружной антифунгальной терапии (5% настойка йода, изоконазола нитрат, серно-дегтярная мазь) в течение 14 дней кожный процесс разрешился; микологические тесты негативировались. Ребёнок находится под диспансерным наблюдением.

**Выводы.** Гриб *Microsporium persicolor* относится к числу редких патогенов. Одним из возможных источников инфекции являются обезьяны (лемуры). При своевременной диагностике микоз, вызванный *M. persicolor*, успешно поддается терапии.

Клиническая картина микроспории, связанной с *M. persicolor* не имеет отличий от микроспории, вызванной другими патогенными грибами рода *Microsporium*.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ЛОСЬОНА С ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ЭФФЕКТОМ ПРИ НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ МИКРОСПОРИЕЙ

Мухамадеева О.Р.<sup>2</sup>, Хисматуллина З.Р.<sup>2</sup>, Чикишева Г.Е.<sup>1</sup>,  
Медведев Ю.А.<sup>1</sup>, Петренко Е.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> НИТИ гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АНРБ, Уфа

<sup>2</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

<sup>3</sup> ООО ИНКИ ПРОФИ

Косметологический лосьон, содержащий диметилсульфоксид, салициловую кислоту и салициловую соль 2-метоксикарбонил-амино-бензимидазола, оказывающей антифунгальное действие на дерматофиты [1], использован в качестве наружного средства при комплексной терапии больных микроспорией. Под нашим наблюдением находилось 6 пациентов (4 мальчика и 2 девочки) в возрасте от 6 до 9 лет с диагнозами: микроспория волосистой части головы (4 случая) и микроспория гладкой кожи (2 случая). При поражении волосистой части головы у пациентов наблюдалось по одному очагу 2 и 4 см в диаметре, при поражении гладкой кожи процесс был представлен от 6 до 8 очагов от 1 до 2,5 см в диаметре. При люминесцентном обследовании под лампой Вуда элементы гриба в очагах на волосистой части головы давали светло-зеленое свечение.

У всех наблюдаемых нами больных при бактериологическом исследовании были выделены культуры *Microsporum canis* [2,3]. Пациенты получали комплексное лечение: таблетки гризеофульвин 125 мг из расчета по 22 мг на 1 кг массы тела в течение 20 дней при поражении гладкой кожи, либо 30 дней при поражении волосистой части головы, и наружную терапию 2 раза в день лосьоном содержащим диметилсульфоксид, салициловую кислоту и салициловую соль 2-метоксикарбониламино-бензимидазола. Переносимость наружной терапии больными была хорошая. При этом люминесцентное свечение в очагах на волосистой части головы сохранялось до 17-го дня наблюдения, а отрицательные результаты микологического обследования на грибы отмечены с 18 дня лечения. У пациентов с поражением гладкой кожи первый отрицательный анализ на грибы с очагов поражения получен на 7 день лечения.

Результаты исследования позволяют заключить, что предлагаемый лосьон может быть использован как средство наружной терапии при комплексном лечении микроспории волосистой части головы и гладкой кожи, однако, учитывая малое количество пролеченных пациентов, требуется дальнейшее изучение предлагаемого лосьона. С учетом широкого спектра антифунгальной активности входящего в его состав гидрохлорид 2-метоксикарбониламино-бензимидазола [1] вопрос о возможностях использования для наружной терапии других видов и клинических вариантов дерматофитий как гладкой кожи, так и волосистой части головы, также нуждается в дальнейшем изучении.

### Список литературы

1. Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А., Колбин А.М. и др. Сравнительная антифунгальная активность некоторых производных метилового эфира 2-бензимидазол-ил-карбаминовой кислоты в отношении антропо-зоопатогенных грибов. Усп. мед. микол. 2014; 12: 380-3.
2. Степанова Ж.В. Грибковые заболевания. М.: Миклош, 2005 :124 с.
3. Сбойчаков В.Б. Медицинская микология. Пособие для врачей. Гэтар-медиа. М. 2008.

## К ТЕРАПИИ ОТРУБЕВИДНОГО РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ

Селютина О.В.  
ВОККВД, Воронеж

**Введение.** Разноцветный отрубевидный лишай – грибковое заболевание кожи, характеризующееся поражением рогового слоя эпидермиса. Возбудителем данного заболевания является липофильный гриб *Malassezia furfur*.

**Материалы и методы.** В 2012 г. под наблюдением находились 7 мужчин от 18 до 30 лет с диагнозом: отрубевидный разноцветный лишай, распространенный процесс. Диагноз выставлен на основании характерной клинической картины (множественные пятна округлой формы в диаметре 0,5 – 1,0 см с фестончатыми краями, розового, желтовато-розового и бурого цвета, с отрубевидным шелушением; проба Бальцера положительная; при люминисцентном исследовании с помощью лампы Вуда буроватое свечение) и микроскопического подтверждения (в соскобе обнаружен гриб *M. furfur*). Системная терапия не назначалась. В качестве наружного лекарственного средства применяли спрей тербинафин 1% («термикон», ООО Фармстандарт, Россия) 2 раза в сутки через 12 ч 14 дней. Клиническую эффективность оценивали на 7,14 дни терапии и через 1 и 6 мес.

**Результаты.** Все пациенты были удовлетворены результатами проводимой терапии, отмечали простоту и удобство в применении. Клиническое улучшение на 7 день терапии, клиническое выздоровление на 14 день терапии отмечено в 100% случаев. Побочных эффектов на фоне проводимой терапии не отмечалось. На диспансерном осмотре через 1 и 6 месяцев – рецидивов нет, пациенты здоровы.

**Выводы.** Спрей тербинафин 1% («термикон», ООО Фармстандарт, Россия) может быть рекомендован в качестве монотерапии распространенных форм отрубевидного разноцветного лишая у мужчин.

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МИКОЗОВ КРУПНЫХ СКЛАДКОВ

*Соколова Т.В., Малярчук А.П., Газарян О.Л.*

Медицинский институт усовершенствования врачей  
МГУПП, Москва

**Актуальность проблемы.** Микозы крупных складок (МКС) являются значимой междисциплинарной проблемой медицины. Однако им уделяется значительно меньше внимания, чем другим дерматофитиям. Анализ заболеваемости населения РФ МКС затруднен. С чем это связано? В МКБ-10 имеется только эпидермофития паховая – класс В35.6. Традиционный подход к МКС, существовавший до введения в практику данной классификации, включал эпидермофитию и рубромикоз. С целью дифференциальной диагностики выделялся кандидоз крупных складок (ККС). Каждая из указанных нозологических форм имеет свои эпидемиологические, клинические особенности, спектр триггерных факторов, влияющих на течение, хронизацию процесса, выбор тактики лечения [1– 5 и др.]. Многолетний опыт работы в системе последипломного профессионального образования свидетельствует, что дерматологи в настоящее время рубромикоз крупных складок (РКС) регистрируют в разделе «Другие дерматофитии» (В35.8), а кандидоз крупных складок – в разделе «Кандидоз других локализаций» (В37.8). Некоторые авторы к МКС относят только рубромикоз пахово-бедренной области и кандидоз крупных складок [6].

**Цель исследования** – изучить практику регистрации МКС и выявить количественные дифференциально-диагностические критерии эпидермофитии, рубромикоза и кандидоза крупных складок.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена на кафедре кожных и венерических болезней МИУВ ФГБОУ ВПО МГУПП. Для выяснения практики регистрации микозов крупных складок проведено анонимное анкетирование 32 дерматовенерологов, проходящих усовершенствование. Выявление количественных дифференциально-диагностических критериев МКС осуществлен при статистической обработке данных многоцентрового исследования, проведенного в РФ в 2012–2013 гг. В нем приняли участие 174 врача из 50 городов РФ. Для унификации исследований использован авторский вариант анкеты, включающей 27 пунктов. Больных поверхностным кандидозом кожи выявлено 1125. ККС составил 12%

(135 пациентов). Больных дерматофитиями было 2784, в том числе 735 (26,4%) с поражением крупных складок. Преобладали пациенты с эпидермофитией крупных складок (ЭКС) – 615 или 83,7%. Больных с рубромикозом крупных складок (РКС) было 120 (16,7%). Для анализа особенностей течения МКС использованы только качественно заполненные анкеты 101 (74,8%) пациента с ККС, 235 (38,2%) – с ЭКС, 70 (58,3%) – с РКС. Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы «STASTICA 6.0» и критерия Стьюдента. При значении  $p < 0,05$  различия между значениями считались достоверными.

*Результаты собственных исследований.* Результаты анонимного анкетирования 32 дерматовенерологов показали, что более половины из них (17 или 53,1%) любой МКС регистрируют как «эпидермофития паховая» (В35.6). Естественно, что в этот раздел включались не только паховая эпидермофития, но и поражения других локализаций, а также РКС и ККС. Другие врачи МКС распределяли по своему усмотрению: 8 (25%) как другие уточненные поверхностные микозы кожи (В36.8); 7 (21,9%) как кандидоз других локализаций (В37.8). Можно ли по таким статистическим данным судить о распространенности в РФ МКС в целом и дерматофитий данной локализации, в частности? Конечно, нет. Этот вопрос требует серьезного обсуждения в дерматологическом сообществе.

*Дифференциальная диагностика дерматофитий крупных складок.* Статистическая обработка данных многоцентрового исследования позволила впервые дать количественную оценку дифференциально-диагностических признаков эпидермофитии, рубромикоза и кандидоза крупных складок.

Таблица 1. Дифференциально-диагностические критерии ЭКС и РКС.

Признак	ЭКС (N=235, %)	РКС (N=101, %)	<i>p</i>
<b>1. Спектр соматической патологии</b>			
Хроническая венозная недостаточность	6,9	35,5	0,00000003*
<b>2. Встречаемость дерматологической патологии</b>			
Имеется	17,4	31,4	0,011*
<b>3. Спектр дерматологической патологии</b>			

Атопический дерматит	-	18,2	0,0000000 *
Псориаз	14,5	54,5	0,000003*
Экзема	4,9	18,2	0,015*
<b>4. Топика микоза крупных складок</b>			
Паховые складки	95,3	80,0	0,0001*
Межъягодичная складка	15,7	41,4	0,00002*
Складки под молочными железами	27,0	12,9	0,030*
Аксилярные складки	4,7	12,9	0,015*
<b>5. Число складок (анатомических областей), вовлеченных в процесс</b>			
Одна	76,6	61,4	0,012*
Две	20,0	34,3	0,013*
<b>6. Поражение стоп</b>			
Имеется	32,8	51,4	0,000000006*
<b>7. Наличие онихомикоза</b>			
Имеется	24,7	65,7	0,0000000002*
<b>8. Наличие поражений кожи других локализаций</b>			
Имеется	-	51,4	0,0000000*
<b>9. Спектр осложнений микозов крупных складок</b>			
Вторичная пиодермия	48,7	22,2	0,009*
Микотическая экзема	34,6	59,3	0,012*
<b>10. Встречаемость микоаллергидов</b>			
Имеются	20,4	42,9	0,0002*

РКС по сравнению с ЭКС достоверно в 5,1 раза чаще (35,5 против 6,9%) регистрировался у больных с хронической венозной недостаточностью, в 1,8 раза чаще – на фоне дерматологической патологии (31,4 против 17,4%). В структуре дерматологической патологии при РКС преобладал псориаз (54,5%). Паховые складки (95,3 против 80%) и складки под молочными железами (27 против 12,9%) чаще вовлекались в процесс при ЭКС. Межъягодичная

складка (41,4% против 15,7%) и аксилярные складки (12,9% против 4,7%) чаще инфицировались при РКС. При РКС в 1,7 раза чаще поражаются две анатомические области складок (43,3 против 20%), в 1,6 раза чаще имел место микоз стоп (51,4 против 32,8%), в 2,7 раза чаще поражались II–V ногтевые пластинки (65,7% против 24,7%). А очаги поражения на других участках кожного покрова выявлены только при РКС (51,4%). Частота осложнений при обоих микозах достоверно не отличалась. Но в их структуре при РКС преобладала микотическая экзема (59,3 против 34,6%), а при ЭКС – вторичная пиодермия (48,7 против 22,2%). Микоаллергиды регистрировались в 2,1 раза чаще при РКС. В таблице 2 приведены дифференциально-диагностические критерии ЭКС и ККС, для которых выявлены статистически достоверные различия.

Таблица 2. Дифференциально-диагностические критерии ЭКС и ККС

Признак	ЭКС (N=235, %)	ККС (N=101, %)	p
<b>1. Пол</b>			
Мужской	63,8	31,7	0,00000005
Женский	36,2	68,3	0,00000005
<b>2. Возраст</b>			
До 18 лет	4,3	12,9	0,004*
От 35 до 55 лет	48,1	35,6	0,035*
<b>3. Встречаемость соматической патологии</b>			
Имеется	62,1	41,6	0,0005*
<b>4. Спектр соматической патологии</b>			
Сахарный диабет	40,4	60,0	0,0008*
Заболевания ЖКТ	20,6	10,7	0,035*
<b>5. Спектр дерматологической патологии</b>			
Микробная экзема	17,1	48,0	0,000000006*
Атопический дерматит	0	36,0	0,00000000*
<b>6. Топика микоза крупных складок</b>			
Паховые складки	91,5	53,5	0,00000000*
Складки под молочными железами	27,0	78,3	0,00000000*
<b>7. Число складок (анатомических областей), вовлеченных в процесс</b>			
Одна	76,6	61,4	0,004*

Две	20,0	33,7	0,007*
<i>7. Поражение стоп</i>			
Имеется	84,7	11,1	0,00000001*
<i>8. Топика поражений кожи других локализаций</i>			
Баланопостит	0	87,5	0,0000000*
Паронихии	0	37,0	0,0000000*
Кандидоз мелких складок	0	11,1	0,0000003*
Кандидозный дерматит стоп	0	11,1	0,0000003*
Кандидозный дерматит ладоней	0	5,6	0,0002*
Межпальцевая эрозия	0	3,7	0,002*
<i>9. Поражение слизистых оболочек</i>			
Имеется	0	68,3	0,0000000*
<i>10. Топика поражений слизистых оболочек</i>			
Вагинит	0	76,0	0,0000000*
Заеда	0	36,2	0,0000000*
Хейлит	0	33,3	0,0000000*
Глоссит	0	14,5	0,00000002*
СО полости рта	0	4,3	0,002*
<i>11. Наличие осложнений микозов крупных складок</i>			
Имеются	33,2	65,3	0,00000005*
<i>12. Спектр осложнений микозов крупных складок</i>			
Вторичная пиодермия	48,7	75,8	0,000003*
Микотическая экзема	34,6	19,7	0,007*
Аллергический дерматит	16,7	4,5	0,004*
<i>13. Встречаемость микоаллергидов</i>			
Имеются	20,4	41,6	0,00006*

ЭКС чаще регистрировалась у мужчин (63,8%), а ККС – у женщин (68,3%). Поражение крупных складок при ККС наблюдалось чаще в возрасте до 18 лет (12,9% против 4,3%), а при ЭКС – в возрастной группе от 35 до 55 лет (41,8% против 35,6%). Оба заболевания часто возникали на фоне соматической патологии, в структуре которой лидирует сахарный диабет, преобладающий при кандидозе (60%

против 40%). ККС часто возникает на фоне сопутствующей дерматологической патологии, в структуре которой преобладают микробная экзема (48%) и атопический дерматит (36%).

Локализацию процесса в области паховых складок при ЭКС имели практически все пациенты (91,5%), а при ККС – только  $\frac{3}{4}$  (78,3%). Однако микоз в области складок под молочными железами в 2,9 раза чаще развивается при инфицировании грибами рода *Candida* (78,3% против 27%). Две анатомические области складок чаще поражаются при ККС (33,7% против 20%).

Важными дифференциально-диагностическими критериями являются поражения стоп, других участков кожного покрова и слизистых оболочек. При ЭКС сопутствующий микоз стоп имел место в 7,6 раз чаще (84,7% против 11,1%). Но при ККС 2/3 (68,3%) больных имели различные варианты поражений других участков кожного покрова: баланопостит (87,5%), паронихии (37%), кандидоз мелких складок (11,1%), кандидозный дерматит стоп (11,1%), кандидозный дерматит ладоней (5,6%), межпальцевые эрозии (3,7%). Поражение слизистых оболочек регистрировалось только при ККС: вагинит (76%), заеда (36,2%), хейлит (33,3%), глоссит (14,4%), гингивит и прочие поражения (4,3%).

Осложненный микоз крупных складок встречается в 2 раза чаще при кандидозе (65,3% против 33,2%). В структуре осложнений при ККС преобладала вторичная пиодермия (75,8% против 48,7%), а при ЭКС – микотическая экзема (34,6% против 19,7%) и аллергический дерматит (16,7% против 4,5%). Микогенная сенсibilизация в большей степени была присуща ККС (41,6% против 20,4%).

### Список литературы

1. Разнатовский К.И., Родионов А.Н., Котрехова Л.П. Дерматомикозы. Руководство для врачей. СПб.: «СПб МАПО». 2003: 158 с.
2. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи. Руководство для врачей. 2-е изд. СПб: «Питер». 2000: 288 с.
3. Рукавишников В.М., Потекаев Н.Н. История учения о руброфитии в нашей стране. Вклад А.М. Ариевича в его развитие. Вестн. дерматол. и венерол. 2000; 3: 78-80.
4. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. М.: «Бином\_пресс». 2008: 480 с.
5. Степанова Ж.В. Грибковые заболевания: диагностика и лечение. М: «Миклош», 2005: 124 с.
6. Степаненко В.И. Дерматология и венерология. Киев: «КИМ», 2012: 904 с.

## ПРОФИЛАКТИКА МИКОЗОВ СТОП

*Соколова Т.В., Малярчук Т.А.*

*Медицинский институт усовершенствования врачей  
МГУПП, Москва*

Микозы стоп (МС) представляют группу заболеваний, при которых процесс часто рецидивирует. Этому способствуют различные факторы: самолечение, несоблюдение схем терапии, предложенных врачом, отсутствие дезинфекции обуви. Не исключена возможность реинфекции при посещении мест общественного пользования (бани, сауны, бассейны, спортивные залы и т.п.), использовании обезличенной обуви, предметов личной гигиены.

**Цель** – анализ причин неэффективности предшествующей антимикотической терапии при МС и обобщение данных литературы о существующих методах профилактики.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена в рамках многоцентрового исследования в РФ, проведенного под эгидой фирмы «ЭГИС» в 2012–2013 гг. В нем приняли участие 174 врача из 50 городов РФ. Разработан авторский вариант анкеты, включающей 27 пунктов. Проведен анализ 995 анкет больных с диагнозом микоз стоп (МС). Проанализированы и систематизированы данные литературы о методах профилактики МС.

**Результаты исследований.** По данным анамнеза ранее топические антимикотики (ТА) получала почти половина (49,9%) больных МС. Рецидивы заболевания зарегистрированы у 36,3% больных, лечившихся препаратами из группы азолов, 46,2% – аллиаминами и 17,5% – препаратами из других групп.

Установлены причины возможных рецидивов заболевания:

- Нарушение традиционного подхода к лечению МС, протекающих с выраженной экссудацией и гиперкератозом. При экссудативных и осложненных (вторичной пиодермией, микотической экземой) формах МС наружная неспецифическая противовоспалительная терапия при назначении ТА группы аллиаминами не проводилась почти у 2/3 (63%) больных, азолов – более чем у трети (37,7%), препаратов других групп – у 1/5 (19%) больных. При МС, протекающих с гиперкератозом, кератолитики или ТА с их содержанием при использовании аллиаминами не получали более половины больных (58,4%), азолов – почти половина (49,9%), препаратов других групп – 18,4%.

- Самолечение, которое практиковала треть пациентов. Его продолжительность не превышала 3 нед. При улучшении процесса больные прерывали лечение, что приводило к рецидиву заболевания.
- Отсутствие дезинфекции обуви у 1/5 (19,8%) больных.
- Реинфекция, причиной которой могли быть члены семьи.

Комплекс лечебных мероприятий при МС обязательно должен дополняться профилактическими. Они подразделяются на общественные и личные [1-6 и др.]. Общественная профилактика МС включает несколько направлений: активное выявление и полноценная регистрация больных; выявление источников заражения и их лечение; выявление контактных лиц и их профилактическое лечение; диспансеризация больных; качественная дезинфекция в местах общего пользования, замена деревянных и ковровых покрытий на синтетические; профилактические осмотры декретированного контингента населения; гигиенические и дезинфекционные мероприятия в местах пользования обезличенной обувью (боулинги, лыжные базы, катки и т.п.); пропаганда здорового образа жизни.

Личная профилактика зависит от гигиенических навыков больного и умения врача квалифицированно разъяснить больному меры предотвращения заражения грибами. Для этого больной должен насухо вытирать ноги после водных процедур, особенно между пальцами, используя специальное полотенце для ног, а при наличии МС – одноразовое. В домашних условиях важно регулярно обрабатывать мочалки, губки, ножницы моющими средствами (белизна, пемолукс, комет, АС и др.). Посещать бассейны, бани, душевые, пляжи следует в индивидуальной синтетической обуви. В гостях лучше находиться в собственной обуви или тапочках. Не следует пользоваться обувью, вызывающей повышенную потливость и стесняющую стопы. При любых микротравмах их следует обрабатывать антисептиком.

Для профилактики потливости используют дезодорирующие препараты и антиперспиранты. Повышенная потливость при МС зачастую сопровождается неприятным запахом и вегетосудистыми расстройствами. В этом случае показаны ванночки с антисептиками (перманганатом калия, корой дуба, хлоргексидином, бетадином), алкалоиды красавки (белластезин, беллатаминал и др. по 1 таб. 2–3 раза в день, продолжительность курса 1 мес.). Можно использовать различные пудры и присыпки от повышенной потливости [3-4]. Снижают потливость паста Теймурова, деоконтроль, формгель.

Перед использованием препарата ноги следует тщательно вымыть и высушить полотенцем. Формгель наносят тонким слоем на 30–40 минут на область подошв и межпальцевых складок. Экспозиция не более 20 мин. Затем препарат смывают теплой водой. Одной процедуры достаточно для снижения потливости кожи на 7–12 дней. При резко выраженной потливости процедуру проводят 2–3 дня подряд [7-9]. Существуют присыпки, обладающие антифунгальным и дезодорирующим эффектом, содержащие бифоназол, клотримазол, миконазол. Присыпки наносят на чистую сухую кожу 2-3 раза в день [2,10]. После завершения лечения МС желательно использовать дезодоранты для ног, выпускаемые парфюмерной промышленностью (Fluides, FootSpray, DryDry, Gehwol, Scholl и многие др.). При сухости стоп следует использовать эмолиенты (дардиа, атодерм, эмолиум, топикрем, физиогель и др.)

Особое внимание уделяется дезинфекции обуви. Для этой цели используют различные методы: кипячение хлопчато-бумажных изделий; обработка растворами формалина 20-40%, уксусной кислоты 40%, хлогексидина биглюконата 1%; использование влажных дезинфицирующих салфеток и специальных спреев (санитель, микостоп, ламизил, бифосин, фунготербин и др.), дезинфицирующего устройства «Тимсон» [1, 12]. Хлопчатобумажные носки, гольфы, колготы кипятят в течение 15-20 мин в стиральном порошке или мыле. Для дезинфекции обуви используют ватный или марлевый тампон, пропитанный выше перечисленными растворами, которым тщательно протирают внутреннюю поверхность и стельки. Использованный тампон кладут в носок обуви, и герметически упаковывают ее в полиэтиленовый пакет. Экспозиция составляет 1–3 сут в теплом месте (дезинфектант действует активнее). После дезинфекции обувь проветривают до исчезновения запаха. Влажными дезинфицирующими салфетками можно обрабатывать ступни и обувь. Эти салфетки удобно использовать тем, кому приходится надевать обезличенную обувь. Их можно применять также детям.

Разработаны и внедрены в практику противогрибковые носки, стельки, тапочки. Они рекомендуются пациентам, ведущим активный образ жизни, при повышенной потливости и неприятном запахе стоп, при длительном ношении плохо вентилируемой обуви (спортсмены, водители, военнослужащие, строители, работники производства и сельского хозяйства). Противогрибковые носки и стельки рекомендуется использовать одновременно. Дезинфицирующие свойства сохраняются в течение 10 стирок нейтральными моющими средствами (например, детским мылом или порошком).

Устройство для противогрибковой обработки обуви «Тимсон» оказывает выраженное фунгицидное действие. Прибор, помещенный в обувь, нагревается до 60–70 °С, обеспечивая ее сушку и обработку ультрафиолетом в течение 6–12 ч. При этом погибают 99–100% дрожжеподобных грибов *Candida albicans*, *Tr. rubrum*, *Tr. mentagrophytes* и 64,7–85,2% *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* [12]. Устройство успешно использовалось для профилактики микозов стоп и пиодермий у военнослужащих [11].

### Список литературы

1. Жукова О.В. Современные методы наружной терапии онихомикозов. Клин. дерм. и венерол. 2012. 5: 76–8.
2. Монахов С.А. Новые возможности в местной терапии и профилактике микотических поражений кожи РМЖ. 2005. 13(5): 237–9.
3. Разнаговский К.И., Родионов А.Н., Котрехова Л.П. Дерматомикозы. Руководство для врачей. СПб.: «СПбМАПО». 2003: 158 с.
4. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи. Руководство для врачей. 2-е издание. СПб: «Питер». 2000: 288 с.
5. Рукавишников В.М. Микозы стоп. М.: «ЭликсКом». 2003: 332 с.
6. Сергеев Ю.В., Сергеев А.Ю. Проект “Горячая линия”: итоги и результаты. Усп. мед. микол. 2003; 2: 153–4.
7. Альбанова В.И. Избыточное потоотделение: проблемы и решения. Совр. микол. в России. 2008; 2: 406–7.
8. Альбанова В.И. Уменьшение потливости ног – важный шаг на пути к предотвращению микозов. Усп. мед. микол. 2005; 6: 176–80.
9. Альбанова В.И., Курилкина В.Н. Повышенная потливость стоп как фактор развития микоза и её лечение. Усп. мед. микол. 2004; 4: 273–4.
10. Степанова Ж.В. Микозы гладкой кожи. Лечащий врач. 2002. 12: 4–10.
11. Самцов А.В. Новое средство профилактики микозов стоп у военнослужащих. Военно-мед. журн. 2007; 328(8): 16–8.
12. Васильева Н.В., Чилина Г.А., Богомолова Т.С. Эффективность воздействия устройства для противогрибковой обработки. Пробл. мед. микол. 2007; 9(2): 23–4.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РУБРОМИКОЗА КРУПНЫХ СКЛАДКОВ

Соколова Т.В., Малярчук А.П., Газарян О.Л.

Медицинский институт усовершенствования врачей  
МГУПП, Москва

Рубромикоз крупных складок (РКС) в большинстве публикаций описывают в разделе «Руброфития гладкой кожи». Заболевание нередко с самого начала имеет хроническое течение. В процесс вовлекаются не только крупные складки, но и ягодицы, голени [1–6 и др.]. В результате аутоинокуляции или первичного инфицирования пораженными могут оказаться подкрыльцовые впадины, складки под молочными железами у женщин, локтевые сгибы и подколенные ямки, а также любой участок кожного покрова, включая волосистую часть головы. Генерализованные варианты руброфитии с одновременным поражением стоп, ногтей крупных складок (паховые, подмышечные, межъягодичные, под грудными железами) и гладкой кожи имели место у 16–25% больных [7].

Очаги РКС чаще бывают симметричными, появляются синхронно, имеют неправильные округлые или овальные очертания, склонность к слиянию и периферическому росту. Эритема при РКС менее выражена, чем при соответствующей форме эпидермофитии [8]. Из складок грибковый процесс быстро распространяется на соседние участки кожи бедер, ягодиц, живота, лобка, гениталий, спины, груди. У лиц пожилого возраста процесс, как правило, выходит за пределы складок, и больные отмечают сильный, а порой – мучительный зуд [9]. Однако бывает и изолированное поражение крупных складок [10, 11].

Клиническая картина заболевания при инфицировании *Tr. rubrum* гладкой кожи, в том числе и крупных складок, имеет типичные проявления. Границы очага обычно четкие, прерывистые, нередко с фестончатыми очертаниями. Они обладают периферическим ростом, за счет чего сливаются друг с другом. В результате образуют сплошные крупные очаги с фестончатыми очертаниями, захватывающими большие по площади участки кожного покрова [12]. Не случайно некоторые авторы называли РКС «*ekzema serpiginozum*» [13]. При большой давности заболевания острота процесса уменьшается, пузырьки исчезают, папулы, образующие периферический валик, становятся плоскими и сухими, в окраске очага преобладают синюшные, желтоватые и даже буроватые тона. Редко очаги пора-

жения имеют ирисоподобный вид за счет двух или более валиков, идущих как бы параллельно друг другу. Иногда на коже бедер, голени, ягодиц можно выявить глубокие фолликулярно-узловатые инфильтраты, а у трети пациентов в процесс вовлекаются пушковые волосы [7]. При одновременном инфицировании *E. floccosum* и *Tr. rubrum* микоз крупных складок может протекать атипично [4, 14].

**Цель исследования** – дать количественную оценку клиническим манифестациям РКС в РФ по материалам многоцентрового исследования, проведенного в 2012–2013 гг.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена под патронажем фармацевтического завода ЭГИС (Венгрия) одновременно в 50 регионах РФ. Задействовано 97 лечебно-профилактических учреждений и 174 врача. Использован авторский вариант анкеты, включающей 27 пунктов. Одним из условий эксперимента был отбор больных с отсутствием ониомикоза или минимальным поражением ногтевых пластинок, когда индекс КИОТОС позволял проводить только местную терапию сопутствующего микоза стоп. Таких больных с РКС было 120 (16,7%). Для анализа особенностей течения РКС использованы только качественно заполненные анкеты – 70 (58,3%). Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы «STASTICA 6.0» и критерия Стьюдента. При значении  $p < 0,05$  различия между значениями считались достоверными.

**Результаты исследований.** Преобладали больные с давностью заболевания от одного до 2 мес. (32,9%) и от 2 до 6 мес. (27,1%). Одинаково часто регистрировались пациенты со сроками заболевания до мес. (21,4%) и более 6 мес. (18,6%). По данным анамнеза до начала анкетирования лечение топическими антимикотиками различных групп получали 2/3 (65,7%) больных. Основным субъективным симптомом заболевания был зуд, который зарегистрирован у всех пациентов, в том числе слабый у 18,6%, умеренный – у 47,1% и сильный – у 34,3%.

Большая часть (80%) больных имела манифестацию процесса в области паховых складок. Нередко инфицировалась межъягодичная складка (41,4%). Их сочетанное поражение отмечено у трети (31,4%) пациентов. Аксиллярные складки и складки под молочными железами инфицировались одинаково часто (по 12,9%). При РКС нередко в процесс вовлекалось несколько складок. Одна атомическая область складок была поражена у 61,4% больных, две – у 34,3%, три – у 4,3%. Среднее значение числа областей на одного больного составляло  $1,5 \pm 0,4$ . Преобладало симметричное поражение складок

(77,1%). Односторонний процесс (22,9%) не исключал возможности скрытого течения микоза на противоположной стороне.

Основными клиническими проявлениями РКС были эритема (100%), папулы (85,7%), инфильтрация (81,4%), чешуйки и трещины (по 61,3%). Почти у половины больных отмечены корочки (44,3%). Экссудативные морфологические элементы зарегистрированы у трети пациентов, в том числе пустулы (34,3%), везикулы (31,4%) и мокнутие (32,9%). Мацерация наблюдалась в 22,9% случаев. Клиническая характеристика высыпаний свидетельствует, что 2/3 больным с РКС изначально показано назначение топических антимикотиков в форме крема.

Микоз стоп выявлен более чем у половины (51,4%) больных РКС. Лидировала сквамозно-гиперкератотическая форма (72,2%) различной степени выраженности. Микоз кистей выявлен у каждого пятого (20%) пациента, практически всегда в сочетании с микозом стоп (93,3%). Онихомикоз на стопах имел место у 2/3 (65,7%) пациентов, на кистях – 17,1%. Не исключено, что первичное поражение стоп и кистей способствовало заносу инфекции в область крупных складок. На фоне микоза стоп онихомикоз наблюдался в 88,9% случаев. Изолированное поражение ногтевых пластинок на стопах встречалось у каждого пятого (20%) пациента. Преобладала гипертрофическая форма онихомикоза (93,5%). Наиболее часто поражались ногтевые пластинки V (60,3%) и II (41,4%) пальцев стоп, реже – III (32,8%) и IV (24,1%). Чаще регистрировалось инфицирование двух (37%) и трех (26,1%) ногтей, реже – одного (15,2%). Четыре и более ногтевых пластинки (с учетом кистей) вовлекались в процесс у 21,7% больных. Среднее число пораженных ногтевых пластинок было  $2,7 \pm 0,8$ . При наличии РКС именно их поражение являлось поводом обращения к врачу. Микоз стоп и онихомикоз выявлялись при тщательном осмотре кожных покровов.

РКС нередко протекал как многоочаговый процесс. Очаги поражения на гладкой коже выявлены у половины больных (51,4%). В этой группе больных они чаще локализовались на бедрах (36,1%), голенях (33,3%), ягодицах (30,6%), животе (16,7%), шее (11,1%).

Осложнения при РКС выявлены более, чем у трети пациентов (38,6%). В структуре осложнений лидировала микотическая экзема (59,3%), реже регистрировалась вторичная пиодермия (22,2%) и аллергический дерматит (18,5%). Последний вариант наблюдался преимущественно в случаях нерационально подобранной предшествующей наружной терапии. Микоаллергиды зарегистрированы почти у половины больных (42,9%). Не исключено, что это связано

с многоочаговостью процесса, способствующего более интенсивной сенсibilизации организма грибковым аллергеном. Нельзя исключать и факт ошибочного восприятия врачом очагов микоза на гладкой коже как аллергии.

### Список литературы

1. Потекаев Н.Н., Потекаев Н.С., Гаджиев М.Н., Литинская Е.С. Поверхностные микозы кожи. РМЖ. 2001; 9: 16-17.
2. Разнатовский К.И., Родионов А.Н., Котрехова Л.П. Дерматомикозы: Рук. для врачей. С-Пб.: «СПбМАПО». 2003. 158 с.
3. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи. Рук. для врачей. 2-е изд. СПб: «Питер», 2000. 288 с.
4. Рукавишникова В.М. Микозы стоп. М.: Эликс Ком. 2003: 332 с.
5. Ruth AH, Glyn EV. Fungi and skin. Microbiol. Today. 2000; 27: 133-34.
6. Shetsiruli LT. On the clinical course and characteristics of mycosis caused by *Trichophyton rubrum* in Georgia. Mycopathol. mycol. appl. 1969; 38(3): 277-87.
7. Рукавишникова В.М. Эпидемиология, патогенез, клиника, лечение и профилактика микозов стоп. *Materia Medica*. 1997. 14(2): 12-35.
8. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. М.: «Бином». 2008: 480 с.
9. Потекаев Н.Н., Потекаев Н.С., Гаджиев М.Н., Литинская Е.С. Поверхностные микозы кожи. РМЖ. 2001; 9: 16-7.
10. Букин Ю.К., Юдкина Н.В. О проведении массовой работы по привлечению к обследованию и лечению населения области с грибковыми поражениями кожи и ногтей. Тез. докл. X Всеросс. съезда дерматовенерологов. М. 2008; 51.
11. Moyano EG, Erchiga VC, Gamero AH. et al. Imported *Tinea cruris* (*glutealis*) caused by *Trichophyton rubrum* var. *raubitschekii*: the third case in Spain. *Rev. Iberoam. Micol.* 2010; 27 (1): 25-6.
12. Маргынова М.И., Петрайкина Е.Е., Пилютик В.Ф. Особенности нарушения кожных покровов при инсулинзависимом сахарном диабете. *Лечащий врач*. 2002; 6: 32-7.
13. Фейер Э., Олах Д., Сатмари Ш. и др. Медицинская микология и грибковые заболевания. Будапешт. 1966: 985 с.
14. Бабаян К.Р. Ультраструктура возбудителя паховой эпидермофитии, его проникновение в кожу, клиническая картина микоза на настоящее время. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 1978: 22.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ РУБРОМИКОЗА КРУПНЫХ СКЛАДКОВ СЕРТАКОНАЗОЛОМ

*Малярчук А.П., Соколова Т.В., Газарян О.Л.*

*Медицинский институт усовершенствования врачей  
МГУПП, Москва*

В арсенале противогрибковых средств насчитывается свыше 100 наименований и более 20 лекарственных форм [1]. Еще А.М. Ариевич утверждал, что при эпидермофитии чаще требуется щадящая терапия, при рубромикозе – более энергичная [2]. Подбор терапии при дерматофитиях крупных складок (ДКС) не простая задача. Врач должен помнить определенные закономерности. Препараты на мазевой основе используются редко, т.к. высыпания локализируются в зонах с повышенной влажностью кожных покровов. При осложнении ДКС вторичной инфекцией и микотической экземой, особенно при сопутствующем сахарном диабете, заболевание протекает торпидно и труднее поддается лечению [3]. Поэтому актуально использование топических монопрепаратов, обладающих одновременно выраженным антимикотическим, антибактериальным и противовоспалительным действием.

Таким препаратом является крем сертаконазола (залаин) [4, 5, 6]. Высокая липофильность способствует накоплению его в глубоких слоях кожи, обеспечивая сохранение в ней эффективной терапевтической концентрации в течение 48 ч. Резистентность возбудителей микозов к препарату не зарегистрирована. Рецидивы заболевания практически отсутствуют. Препарат не обладает системным действием, не вызывает побочных эффектов. Длительность его назначения определяется индивидуально в зависимости от особенностей клинического случая, в среднем составляет 2-4 нед. Сертаконазол разрешен для применения у детей без возрастных ограничений [7,8].

Если возникает необходимость использования комбинированных топических препаратов, содержащих антимикотик и глюкокортикоид (ДКС, осложненные аллергическим дерматитом или микотической экземой), то следует выбирать препараты, разрешенные для использования в области складок, обладающие минимальным атрофогенным эффектом (например, пимафуорт, травокорт и др.). Обязательно учитывается степень выраженности воспалительного процесса в складках, наличие или отсутствие экссудативных морфологических элементов, мокнутия, мацерации. Учитывая, что при рубромикозе крупных складок (РКС) стопы поражаются у половины

пациентов, необходимо выявлять эти очаги и лечить их. Онихомикоз с минимальным поражением ногтевых пластинок имеет место у 2/3 больных РКС. В этих случаях лечение пораженных ногтевых пластинок позволяет достичь 100% клинического выздоровления и избежать рецидивов заболевания. Очаги поражения на гладкой коже при РКС имеют половина больных. Вопрос о назначении системных антимикотиков решается индивидуально. Два многоцентровых исследования, выполненные в 2010–2011 и 2012–2013 гг. [9, 10] показали, что сопутствующая соматическая патология, зарегистрированная у 2/3 больных РКС (64,3%), может являться противопоказанием для использования системных антимикотиков.

**Цель исследования** – оценить эффективность топического антимикотика (ТА) сертаконазола (залаина) при лечении РСК и определить факторы, влияющие на сроки выздоровления.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена под патронажем фармацевтического завода ЭГИС (Венгрия) одновременно в 50 регионах РФ. Задействовано 97 лечебно-профилактических учреждений и 174 врача. Использован авторский вариант анкеты, включающей 27 пунктов. Одним из условий эксперимента был отбор больных с отсутствием онихомикоза или минимальным поражением ногтевых пластинок, когда индекс КИОТОС позволял проводить только местную терапию сопутствующего микоза стоп. Больных с РКС было 120 (16,7%). Для анализа эффективности лечения РКС использованы только качественно заполненные анкеты – 70 (58,3%). Статистическая обработка результатов исследования проведена в лаборатории математической теории эксперимента МГУ им. М.В. Ломоносова с использованием пакета статистических программ «STASTICA 6.0». Применен метод корреляционного анализа (коэффициент корреляции Spearman – ККС).

**Результаты исследований.** Анализ гендерных характеристик показал, что при РКС мужчин было в 2,3 раза больше, чем женщин (70% против 30%). Преобладала возрастная группа от 35 до 55 лет (42,9%). 1/4 выборки составляли пациенты в возрасте от 18 до 35 лет (25,7%), 1/5 – старше 55 лет (21,4%) и только 10% - до 18 лет. Особенности течения РКС детально изложены в статье, представленной в данном сборнике [11].

Оценка эффективности сертаконазола (залаина) при лечении РКС проведена с учетом гендерных характеристик и особенностей клиники заболевания. При неосложненном процессе крем втирали в очаги поражения на коже (складки, бедра, мошонка, стопы) и в ногти 2 раза в сутки (утром и вечером) до полного разрешения кли-

нических проявлений. Для усиления пенетрации крема в ногтевые пластинки больным предлагали после содово-мыльной ванночки спиливать с них блестящий слой. При РКС, осложненном микотической экземой или аллергическим дерматитом, и при наличии микидов внутрь назначали супрастинекс или парлазин по 1 таб. на ночь. Курс лечения составлял 10 сут.

При наличии пустул использовали наружно раствор бетадина (область складок) или мазь бетадина (вне складок). Выздоровевшим считали больного при разрешении всех клинических проявлений дерматофитии; значительным улучшением – уменьшение площади очагов поражения, преобладание в клинической картине заболевания эритемы, исчезновение папул, везикул, эпителизация эрозий; улучшением – сохранение площади очагов поражения при положительной динамике разрешения высыпаний.

В целом по выборке, выздоровление через 2 нед. достигнуто только у 6 (8,6%) пациентов, через 3 нед. – у 30 (42,8%) и через 4 нед. – у 34 (48,6%). Корреляционный анализ позволил установить зависимость сроков выздоровления через 2 и 3 нед от ряда факторов. Спустя месяц выздоровели все больные. На сроки выздоровления влиял возраст пациентов ( $KKC=0,365$ ). Через 2 нед разрешение клинических проявлений зарегистрировано в 3,6 раза больше у пациентов в возрасте до 35 лет по сравнению с возрастной группой старше 35 лет (16% против 4,5%), через 3 нед эти различия были в 2 раза больше (76% против 37,8%).

При наличии сопутствующей соматической патологии через 2 нед выздоровевших пациентов не было, в то время как при ее отсутствии высыпания разрешились у 24% больных. Через 3 нед различие составляло 3,2 раза (92% против 28,9%) ( $KKC=0,573$ ). Интересно отметить, что предшествующая терапия ТА различных групп существенно влияла на сроки выздоровления ( $KKC=0,577$ ). Через 2 нед. выздоровление наступило только у  $\frac{1}{4}$  (25%) больных, не получавших предварительную терапию. Через 3 нед. выздоровевших пациентов в данной группе было в 2,7 раза больше (87,5% против 32,6%). Давность заболевания влияла на выздоровление ( $KKC=0,473$ ). Если пациент болел в течение 2 мес то его выздоровление за 2 нед зарегистрировано в 5,7 раза чаще (17,8 против 3,1%), чем более 2 мес. А через 3 нед эти различия составляли в 3 раза (92,8 против 31,2%).

Интересно отметить, что предшествующая терапия ТА различных групп существенно влияла на сроки выздоровления ( $KKC=0,577$ ). Через 2 нед выздоровление наступило только у  $\frac{1}{4}$

(25%) больных, не получавших предварительную терапию. Через 3 нед выздоровевших пациентов в данной группе было в 2,7 раза больше (87,5% против 32,6%).

Учитывая, что при РКС в процесс часто вовлекаются складки нескольких анатомических областей, выявлена зависимость между этим фактором и сроками выздоровления больных (ККС=0,628). Разрешение процесса через 2 нед. зарегистрировано только у 14% больных с поражением одной анатомической области складок. Через 2 нед. эти отличия боли существенными – в 5 раз (74,4% против 14,8%). Сроки выздоровления больных РКС напрямую зависели и от наличия сопутствующего микоза стоп (ККС=0,596). Через 2 нед. выздоровление зарегистрировано только у больных без сопутствующего микоза стоп (17,6%), Через 3 нед эти отличия были значимыми – в 2,5 раза (61,8% против 25%).

Наличие онихомикоза влияло на сроки выздоровления. Статистически значимые различия выявлены для пациентов с поражением 1–2 и 3 и более ногтевых пластинок (ККС=0,675). Через 2 нед выздоровления больных при наличии онихомикоза не наблюдалось. Через 3 нед в этой группе процесс разрешился у единичных пациентов (9,1%), что в 6 раз меньше, чем в группе пациентов без онихомикоза (54,2%). Наличие осложнений значимо влияло на сроки выздоровления больных РКС (0,418). Практически все больные выздоровели только через 4 нед. Только у единичных пациентов (3,7%) высыпания разрешились через 3 нед. Микотическая сенсibilизация, определяемая наличием микоаллергидов, значимо влияла на сроки выздоровления. Через 2 нед выздоровление зарегистрировано только в группе больных без сенсibilизации (15%). Через 3 нед. процесс разрешался также преимущественно в группе пациентов без микидов (85% против 6,7%).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют, что длительность терапии больных РКС зависит от возраста больных и особенностей клинической проявлений заболевания. Курс терапии длительностью в месяц желательно проводить пациентам в возрасте старше 35 лет, при наличии сопутствующей соматической патологии, использовании ранее ТА различных групп и давности заболевания более 2 мес.

Такой подход необходим и больным при вовлечении в процесс двух и более анатомических областей крупных складок, наличии микоза стоп, онихомикоза с поражением 3 и более ногтевых пластинок, микоаллергидов и осложнений. Это дает возможность избежать рецидивов заболевания.

**Список литературы**

1. Лещенко В.М. Грибковые инфекции кожи: современные анти-микотики в дерматологии. *Consilium Medicum* 2004; (6)3: 186-91.
2. Рукавишников В.М., Потекаев Н.Н. История учения о руброфитии в нашей стране. Вклад А.М. Ариевича в его развитие. *Вестн. дерматол. венерол.* 2000; 3: 78-80.
3. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses Worldwide. *Mycosis.* 2008; 51(4): 2-15.
4. Адаскевич В.П., Козин В.М. Кожные и венерические болезни. 2-е изд. М.: «Медицинская литература». 2009: 672 с.
5. Горячкина М.В., Белоусова Т.А., Потекаев Н.Н. Сертаконазол в местном лечении поверхностных микозов кожи. *Клин. дерматол. венерол.* 2012; 5: 42-7.
6. Хамаганова И.В., Кашеваров Д.Ф. Применение сертаконазола при поверхностных микозах, осложненных бактериальной инфекцией. *Росс. аллергол. журн.* 2013; 3: 68-72.
7. Залаин (сертаконазол). Монография для специалистов [электронный ресурс], 2005. Режим доступа: <http://medi.ru/DOC/a0330204.htm>.
8. Borelli C, Korting HC, Bodeken RH, Neumeister C. Safety and efficacy of sertaconazole nitrate cream 2% in the treatment of tinea pedis interdigitalis: a subgroup analysis. *Cutis.* 2010; 85(2): 107-11.
9. Соколова Т.В., Малярчук Т.А. Многоцентровое исследование проблемы микозов стоп в РФ. Причины неэффективности и стратегия объективизации оценки лечения топическими анти-микотиками. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.* 2014; 2: 66-78.
10. Соколова Т.В., Малярчук А.П., Малярчук Т.А. Результаты многоцентрового исследования по изучению поверхностных микозов кожи в регионах Российской Федерации и оценке эффективности их лечения сертаконазолом. *Клин. дерматол. венерол.* 2013; 5: 24-34.
11. Соколова Т.В., Малярчук А.П., Газарян О.Л. Клиническая характеристика рубромикоза крупных складок.

## ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ КАБИНЕТА «ЭСТЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ» В МИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТДЕЛЕНИИ ОБЛКОЖВЕНДИСПАНСЕРА

*Спиридонов В.Е., Саларев В.В.*

*Витебский ОКВД*

**Введение.** Современная микология располагает множеством методов и лекарственных средств для терапии грибковых заболеваний, арсенал которых с каждым годом пополняется. Вместе с тем на фоне ухудшения социально-экономических условий, неблагоприятной санитарно-эпидемиологической и экологической ситуации, снижения общей иммунологической реактивности организма стали чаще регистрироваться атипичные и резистентные к терапии формы дерматофий. Практика клинической микологии рекомендует для снижения материальных затрат использовать в комплексной терапии методы механического воздействия, что повышает эффективность лечения и излечения.

Одним из таких методов является механическая чистка ногтевой пластины с последующим воздействием антимикотическими препаратами на пораженное ногтевое ложе. Открытие кабинета «эстетической стопы» на базе микологического отделения в Витебском ОКВД является важнейшим компонентом в лечении больных с микозами стоп, онихомикозами и гиперкератозами кожи стоп.

**Цель исследования.** Оценка клинической эффективности лечения и профилактики заболеваний стопы у больных с поражением ногтевых пластин при торпидно текущих формах, рефрактерных к проводимой ранее антимикотической терапии.

Материал и методы исследования. В 2003 г. по инициативе руководства кожно-венерологического диспансера организован кабинет «эстетической стопы» в микологическом отделении УЗ «ВОКВД», где выполняется: механическая чистка и/или удаление ногтевых пластин, назначаются схемы лечения с использованием системной антимикотической терапии и препараты для наружного применения, ванны с «Fusspunkt» при гиперкератозах кожи кистей и стоп. В кабинете работает врач высшей квалификационной категории, прошедший профессиональную переподготовку, тематическое усовершенствование по микологии. Кроме того, в кабинете работает медицинская сестра, прошедшая профессиональную подготовку. Кабинет оснащен удобным креслом, вытяжной вентиляционной системой, электрической бормашиной «Эскорт»-2 с набором ал-

мазных боров. В 2012 г. врачом осуществлено 634 консультации с манипуляцией, в 2013 г. – 768 консультаций и за 2014 году – 731 консультация. В таблице приведено количество выполненных основных манипуляций врачом за время работы в кабинете «эстетической стопы».

Название манипуляции	Количество манипуляций		
	2012 г.	2013 г.	2014 г.
Процедура аппаратной обработки ногтей	467	854	906
Лечение онихомикозов	372	429	596
Лечение гиперкератоза стоп с серией препаратов «Fusspunkt»	65	276	352
Хирургическое удаление ногтевой пластинки	43	127	112

Механическая чистка ногтевой пластинки и ложа проводится на аппарате «Эскорт-2» с использованием алмазных буров различного диаметра и формы, что позволяет убрать массы гиперкератоза, внедрившиеся в ногтевое ложе, и санировать до 20 ногтевых пластин одновременно. При механической чистке ногтевой пластины считается допустимым сокращение времени приема системных антимикотиков до 1–2 мес, обеспечивающих при медленном пути поступления препарата полную защиту ногтевого ложа.

Сделан вывод о ряде преимуществ данной комплексной методики: не отмечена у пациентов кабинета утрата трудоспособности; обязательное наличие асептических условий при проведении процедуры; последующие назначение схемы лечения с учётом показаний и противопоказаний (консультация терапевта, УЗИ сосудов нижних конечностей, ОАК, глюкоза крови). Курс лечения состоял из 1–2 процедуры на каждую пораженную ногтевую пластинку.

Системная терапия тербинафином (Ламизил, Ламитер) проводится в стандартных суточных дозах, рекомендованных производителем и зарегистрированных в инструкции (при массе тела более 40 кг – 250 мг). Однако режим применения рекомендуется не один раз в сутки, а суточная доза делится на 2 приема с интервалом в 12 ч: утром после завтрака и вечером после ужина. Необходимым условием является контроль приема большими препаратами, осуществляемый медицинским персоналом.

**Результаты исследований.** В результате проведенного комплексного лечения с использованием кроме системной антимикотической терапии и механической чистки ногтевой пластинки и ложа у пациентов с микотическим поражением ногтевых пластин диагностированы следующие состояния: «клиническое выздоровление» у 96% больных в 2014 г., у 93% в 2013 г. и 90% в 2012 г. У пациентов с гиперкератозом кожи стоп использование набора препаратов «Fusspunkt» позволило получить выздоровление в 88% случаев у пациентов в 2014 г. Таким образом, положительный терапевтический эффект констатирован у всех больных.

**Закключение.** Наиболее эффективным механическая чистка ногтевой пластинки и ложа оказался у больных характеризующихся дистальным поражением ногтевой пластины и с обильным шелушением кожи стоп. Объективное улучшение характеризовалось уменьшением гиперкератоза, гладкой и ровной поверхностью ногтевого ложа, уменьшением площади поражения ногтевой пластины даже в тяжелых, рефрактерных случаях, начиная уже с первой процедуры. Больным дополнительно проводилась системная антимикотическая терапия, назначались улучшающие периферическое кровообращение ножные ванны, физиолечение. Данный метод хорошо переносился всеми пациентами и не требовал никакой дорогостоящей аппаратуры для обеспечения перфузии и мониторинга.

К преимуществам метода ванны с использованием набора препаратов «Fusspunkt» необходимо отнести его неинвазивность, безвредность и безопасность. В связи с этим процедуру у пациентов можно проводить многократно в любой стадии процесса, а методика выполнения ванны не требует специальной подготовки пациентов. При этом побочных явлений и каких-либо осложнений терапии не наблюдалось.

### **Выводы**

1. Использование в комплексном лечении пациентов с грибковым поражением ногтевых пластин метода механической чистки ногтевой пластинки и ложа позволило получить выздоровление у пациентов при сокращении продолжительности приёма системных антимикотиков до 1–2 мес.

2. Метод с использованием набора препаратов «Fusspunkt» является эффективным у пациентов с гиперкератозом кожи стоп и кистей и рекомендуется к применению у пациентов многократно в любой стадии процесса.

## К ВОПРОСУ О ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ

Ткаченко С.Г.

Харьковский национальный медицинский университет

Разноцветный лишай – широко распространенный мало контагиозный малассезиоз, поражающий около 10% всего населения с пиком заболеваемости в 20-летнем возрасте [1]. Клиника кератомикоза детально описана: перифолликулярная пятнистая сыпь на богатых сальными железами участках кожи (грудь, спина, плечи, шея) отличающейся от собственного цвета кожи окраски (от белой, желтовато-розовой и «кофе с молоком» до коричневого разных оттенков). Для клинической диагностики важное значение имеют симптом стружки Бенье (муковидное шелушение при поскабливании), проба Бальцера (обработка 5 % настойкой йода выявляет более интенсивную окраску в очаге). В постановке диагноза помогает обследование в лучах лампы Вуда – *Malassezia furfur* дает желтовато-белую или медно-оранжевую флуоресценцию. Лампа Вуда позволяет обнаружить субклиническую инфекцию и степень заражения. Она также может помочь отличить *Pityrosporum* -фолликулит от других фолликулитов, например бактериальной природы [2]. Лабораторным подтверждением диагноза является микроскопическая диагностика чешуек кожи очагов поражения в растворе щелочи, выявляющая типичные скопления округлых почкующихся клеток и коротких изогнутых гриф с типичной картиной «спагетти с мясными шариками».

Несмотря на узнаваемую клиническую картину и простую диагностику, в дерматологической практике приходится проводить дифференциальную диагностику с рядом гипомеланозов (витилиго, поствоспалительная гипопигментация, инфекционная лейкодерма), другими инфекционными дерматозами (белый лишай, дерматофитии туловища, себорейный дерматит), с розовым лишаем, псориазом и нумулярной экземой. Однако встречаются в клинической практике и редкие дерматозы, имитирующие клинику разноцветного лишая и требующие проведения тщательной дифференциальной диагностики.

**Клинический случай.** Пациентка 20 лет, 2 фототип, обратилась в частную дерматологическую клинику с жалобами на распространяющуюся сыпь на коже. Болеет 2 нед; 6 мес назад подобная сыпь уже возникала, пациентка обращалась в областной кожно-венеро-

логический диспансер, где микроскопически подтвердили диагноз разноцветный лишай и назначили лечение: спрей тербинафина, салициловый спирт. После лечения наблюдалось полное исчезновение сыпи. Неделю назад обратилась к лечащему дерматологу, где был поставлен диагноз рецидив разноцветного лишая, однако микроскопия грибов рода *Malassezia* не выявила. Назначенная терапия топическим тербинафином и настойкой салициловой кислоты привела к выраженному ухудшению состояния и значительному распространению сыпи.

На момент осмотра: на коже груди, шеи, живота, спины, поясницы, плечей, предплечий вплоть до кистей, бедер и ягодиц гипопигментированные и депигментированные пятна неправильной формы диаметром от 0,2 до 1,2 см с четким краем, кое-где сливающиеся в более крупные очаги. На коже спины единичные мелкие пустулы. Шелушение на поверхности пятен отсутствует, симптом Бенье не выявляется. Проба Бальцера отрицательная. При микроскопическом исследовании в растворе щелочи дрожжевые клетки рода *Malassezia* не выявлены. При осмотре в лучах лампы Вуда обнаруживается яркое оранжево-красное свечение очагов. РМП отрицательная.

На основании клинической картины, данных лабораторных и специальных методов исследования и анализа медицинской литературы был поставлен диагноз: Прогрессирующий макулярный гипомеланоз (ПМГ).

ПМГ впервые был описан Guillet G в 80-х годах прошлого века как приобретенное нарушение пигментации у лиц смешанной расы (темнокожие и европейцы). [3]. ПМГ относится к приобретенным дисхромиям, поражающим преимущественно молодых людей темных фототипов кожи. Патогенез ПМГ остается неизвестным, но этиологическим фактором депигментации считается *Propionibacterium acnes* [4].

Наиболее эффективными методами терапии ПМГ сегодня считается фиксированная топическая комбинация клиндамицина 1 % с бензоил пероксидом 5 %, УФ В 311 нм, УФ А, оральные доксициклин [5,6].

В нашем клиническом случае пациентке был назначен топический гель с фиксированной комбинацией клиндамицина 1 % и бензоил пероксида 5 % 1 раз в день точечно на очаги и системный доксициклин 100 мг в сутки 10 дней. Через 10 дней отмечалось отсутствие новых высыпаний, стирание границ очагов, незначительное восстановление пигментации в очагах. Была назначена фототерапия

УФ В 311 нм 3 раза в неделю, наружное лечение фиксированной комбинацией клиндамицина и бензоил пероксида продолжали. Дерматоз полностью регрессировал через 1,5 месяца.

Прогрессирующий макулярный гипомеланоз представляет собой, в большей степени, косметический недостаток. Из-за сложности дифференциальной диагностики ПМГ часто может быть принят за резистентный к лечению разноцветный лишай, настойчивое лечение которого противогрибковыми средствами лишь усугубляет клиническую картину. ПМГ достаточно скудно описан в современной научно-медицинской литературе, клинические исследования эффективности терапии неконтролируемые, основаны на малом количестве наблюдений, в основном ограничены азиатским типом кожи. Наш клинический случай показал необходимость дифференциальной диагностики с ПМГ в случае рецидивирующего разноцветного лишая с отрицательным ответом на терапию и эффективностью традиционного анти-акне лечения (топический анти-акне гель клиндамицина с бензоилпероксидом и оральным доксициклином) с последующей УФ В 311 нм терапией.

### Список литературы

1. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. 2 изд.-М.: БИНОМ, 2008: 480 с.
2. Gupta LK, Singhi MK. Wood's lamp. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2004; 70: 131-5
3. Guillet G, Helenon R, Gauthier Y et al. Progressive macular hypomelanosis of the trunk: primary acquired hypopigmentation. J Cutan Pathol. 1988; 15: 286-9
4. Westerhof W, Relyveld GN, Kingswijk MM et al. Propionibacterium acnes and the pathogenesis of progressive macular hypomelanosis. Arch Dermatol. 2004; 140: 210-4.
5. Relyveld GN, Menke HE, Westerhof W. Progressive macular hypomelanosis: an overview. Am J Clin Dermatol. 2007; №8(1): 13-9.
6. Kim MB, Kim GW, Cho HH et al. Narrowband UVB Treatment of Progressive Macular Hypomelanosis. J Am Acad Dermatol. 2012; 66: 598-605.

## УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ АССОЦИАНТЫ ПРИ ДЕРМАТОМИКОЗАХ

Тонконогова Н.В., Джусунгалиева М.Х., Семенова Е.В.,  
Абдрашитов Ш.Г.

НИКВИ МЗСР РК, Алма-Ата, Казахстан

**Цель исследования** – изучение степени распространенности условно-патогенных грибов и их ассоциаций как этиологически значимых возбудителей при дерматомикозах.

Изучение микрофлоры очагов поражения проведено у 190 больных микозами стоп, основную часть 143 (75,2%) которых составили больные онихомикозом. Микробиологические исследования проведены с использованием микроскопических и культуральных методов.

**Материалы и методы.** Использовали служили чешуйки с очагов поражения кожи, соскобы с ногтевых пластин. Микроскопически положительный результат ставился при определении ветвистого септированного мицелия, частично или полностью распадающегося на артроспоры (при дерматофитах), большого количества овальных или круглых почкующихся клеток, псевдомицелия (при кандидозе). Идентификацию рода и вида выделенного гриба проводили культуральным методом с помощью соответствующих питательных сред (среда Сабуро, мясо-пептонный агар, жидкое сусло).

Видовая структура микрофлоры очагов поражения при микозах стоп включала грибы рода *Trichophyton*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*, плесневые грибы рода *Aspergillus*. Этиологически значимыми возбудителями грибковой инфекции наряду с дерматофитами (*T. rubrum*, *T. violaceum*, *T. gypseum*), были плесневые (*Aspergillus niger*) и дрожжеподобные (*C. albicans*) грибы. Среди выделенных возбудителей доминировали дерматофиты (преимущественно *T. rubrum*) и дрожжеподобные грибы рода *Candida*, частота встречаемости которых составила  $75,2 \pm 3,1\%$  и  $41,0 \pm 3,2\%$ . Грибы рода *Aspergillus* встречались в  $33,6 \pm 3,4\%$  случаев. В  $53,1 \pm 3,4\%$  наблюдалась моноинфекция, в  $46,3 \pm 3,2\%$  – смешанная.

Из 101 (53,1%) больных моно-инфекцией у 36 ( $35,6 \pm 4,8\%$ ) было вызвано *Tr. rubrum*. Микоз стоп, обусловленный грибами *Candida* наблюдался в  $8,9 \pm 2,8\%$ , плесневыми грибами в  $6,9 \pm 2,5\%$  случаев.

В структуре грибковой инфекции, обусловленной смешанной флорой, отмечен наибольший удельный вес ассоциации дерматофитов *Trichophyton* (*Tr. rubrum*, *Tr. violaceum*) с грибами рода *Candida*.

Данная ассоциация составила  $80,4 \pm 5,3\%$ ,  $19,6 \pm 5,3\%$  – дрожжеподобные грибы рода *Candida* и плесневые грибы рода *Aspergillus*.

Присоединение *Candida*-инфекции наблюдается в  $62,4 \pm 6,5\%$  случаев, что возможно, обуславливает более тяжелое течение инфекционного процесса. Анализ видового состава дрожжеподобных грибов рода *Candida* свидетельствует о достаточно высоком проценте выделения *C. albicans* ( $62,0 \pm 9,5\%$ ), *C. tropicalis* ( $30,5 \pm 8,0\%$ ), являющихся наиболее патогенными, чем другие виды.

**Вывод.** Проведенное исследование позволило установить высокую частоту рода *Candida* и рода *Aspergillus* при микозах стоп, возрастающую при распространенных, длительно протекающих грибковых процессах.

## ВЫБОР ТОПИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СОЧЕТАННЫХ ДЕРМАТОЗОВ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

*Устинов М.В.*

*Медицинский учебно-научный клинический центр  
МО РФ им. П.В. Мандрыки  
Кафедра дерматовенерологии и косметологии  
ИПК ФМБА России, Москва*

Термин «сочетанные дерматозы» стал широко распространенным и достаточно устойчивым среди ученых и практикующих дерматологов. Четкое определение для данной искусственно сформированной группы дерматозов вряд ли возможно в виду индивидуальной значимости, последовательности и этапности включения различных триггеров в формирование многофакторного пускового механизма у конкретных больных. Скорее всего, только один критерий для включения в группу является обязательным – наличие провоцирующей и/или осложняющей сопутствующей инфекции кожи, в том числе и микотической [1, 2]. Основные сценарии патогенеза дерматозов сочетанной этиологии следующие:

1. Вторичная инфекция осложняет течение существующего первично неинфекционного дерматоза.

2. Первично «вялая» инфекция кожи вызывает неадекватный и незаконченный иммунный ответ, проявляющийся сенсibilизацией, а клинически – экзematизацией.

Нами рассматриваются и дополнительные сценарии патогенеза дерматозов, осложненных вторичной инфекцией:

1. Инфекция может быть триггерным фактором для хронического иммунного дерматоза.

2. На первично «вялую» длительно существующую инфекцию кожи с «вялым» воспалительным ответом наслаивается более «агрессивная» инфекция, провоцирующая выраженную воспалительную реакцию/экзematизацию.

В этой связи устранение действия различных инфекционных факторов при дерматозах сочетанной этиологии является одним из ключевым направлением лечения пациентов [3]. Факторы прeодоления кожного барьера и внедрения инфекционных агентов:

- механические нарушения кожного барьера в следствии зуда, выраженной сухости, прямых механических повреждений;

- иммунные повреждения эпидермальных структур;
- физические и химические повреждения эпидермальных структур;
- снижение защитных свойств потожировой мантии кожи;
- создание питательной среды для бактерий на фоне экссудации, сукровичных выделений, гиперкератоза.

Часто именно первично грибковое поражение кожи способствует микробной колонизации и совместному участию как микотических, так и бактериальных агентов в патогенезе формирования дерматозов сочетанной этиологии. Именно поэтому предпочтение в наружной терапии сочетанных дерматозов ведущую роль играют в основном трехкомпонентные препараты, содержащие в себе антимикотик, антибиотик и топический глюкокортикостероид [4].

Рассматривая подходы к лечению микробной экземы, стартовавшей как микотическая инфекция, мы отмечаем, что в группе из 22 обследованного больного заболевание носило в основном острый характер и сопровождалось выраженной субъективной симптоматикой: зудом, болью и в зависимости от локализации: дискомфортом при движении или ношении определенных видов одежды. Заболевание от первичных симптомов до экзематизации развивалось преимущественно в 2-3 месяца, резкое ухудшение – после явных признаков присоединения вторичной бактериальной инфекции. По локализации: микробная экзема кистей и предплечий – 2 случая, пахово-бедренных складок и прилегающих областей – 3, стоп и голеней – 14, а у трех пациентов в процесс помимо стоп и голеней экзематозный процесс распространился на бедра. Возраст больных от 22 до 46 лет, отбор производился с учетом минимума сопутствующей патологии, анамнестического и лабораторного подтверждения первичного микоза.

В качестве препарата выбора выбран крем Кандидерм, в состав которого входят беклометазона дипропионат, гентамицин и клотримазол. Выбор был не случаен и основан на собственном длительном и широком по диапазону опыте использования препарата автором, в том числе и при других сценариях дерматозов сочетанной этиологии. При выборе учитывалось быстрое купирование симптомов поражений кожи с достижением стойкой ремиссии при лечении Кандидермом. Не менее важным критерием отбора стал и высокий профиль безопасности препарата, позволявший эффективно использовать его на деликатных участках кожи (лицо, шея, большие складки кожи, паховая область) без серьезных побочных эффектов [3]. Кандидерм имеет преимущество перед другими препаратами

этой группы местных глюкокортикостероидов. Сочетание выраженного противовоспалительного эффекта с низким потенциалом атрофогенности и отсутствие заметного системного действия Кандидерма обусловлено особенностями химической структуры беклометазона дипропионата, в отличие от бетаметазона, входящего в состав ряда трехкомпонентных препаратов. Беклометазон не является фторированным ГКС, он содержит один атом хлора [5].

Терапия в исследуемой группе до полного купирования симптомов составила 8-14 дней и только в одном случае потребовался курс терапии в 20 сут, что, по-видимому, было обусловлено тяжестью течения заболевания. Купирование субъективной симптоматики происходило в сроки от 3 до 5 сут, что обеспечило высокую комплаентность пациентов к предложенному лечению. Побочных эффектов при применении Кандидерма и отказа больных от терапии в исследуемой выборке не зафиксировано.

**Выводы.** Кандидерм является эффективным трёхкомпонентным комбинированным препаратом для лечения микробной экземы и других сочетанных дерматозов. Высокая степень безопасности, хорошие косметические и органолептические свойства крема, фармакоэкономический фактор [5] делают приверженность больных к терапии Кандидермом достаточной для получения стабильно положительных результатов. Это позволяет рекомендовать применение крема Кандидерм как препарата выбора для лечения сочетанных дерматозов, в т.ч. числе при локализации их в зонах чувствительной кожи.

### Список литературы

1. Котрехова Л.П. Диагностика и рациональная терапия дерматозов сочетанной этиологии. *Consilium medicum* (прилож. к «Дерматология»). 2010; 4: 6-11.
2. Белоусова Т.А., Горячкина М.В. Алгоритм наружной терапии дерматозов сочетанной этиологии. *Вестн. дерматол.* 2011; 5: 138-44.
3. Кузнецова Ю.К., Сирмайс Н.С. Лечение микст-инфекций кожи. *Вестн. дерматол.* 2013; 5: 132-7.
4. Диковицкая Н.Г., Корсунская И.М., Дорджиева О.В., Невозинская З. Терапия вторичных инфекций кожи при хронических дерматозах. Эффективная фармакотерапия. *Дерматология.* 2014; 2: 10-1.
5. Матушевская Е.В., Масюкова С.А., Скрипкина П.А., Чистякова Т.В. Топические комбинированные кортикостероидные препараты в лечении атопического дерматита. *Совр. пробл.дерматовенерол., иммунол. врачебной косметол.* 2009; 2: 14-9.

## ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕРТАКОНАЗОЛА В ТЕРАПИИ ДИСГИДРОТИЧЕСКОЙ ФОРМЫ МИКОЗОВ СТОП

Устинов М.В.<sup>1,2</sup>, Чернова В.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра дерматовенерологии и косметологии  
ИПК ФМБА России,

<sup>2</sup>Центральная поликлиника №2 МВД России, Москва

<sup>3</sup>ДКДЦ НМХЦ им. Пирогова МЗ РФ, Москва

Дисгидротическая форма является относительно редкой, но при этом наиболее тяжело протекающей разновидностью грибкового поражения кожи стоп и характеризуется появлением болезненных, зудящих везикулезных высыпаний, которые сливаются между собой и образуют многокамерные пузыри. Эта форма микоза стоп нередко сопровождается так называемой микотической экземой, чему способствует возникновение сенсibilизации и гиперчувствительности к дерматомицетам. При этом могут появляться экзематозные высыпания (микиды) на кистях и других участках кожного покрова [1]. Патогенез этой формы микоза стоп точно не установлен, она отличается упорным и длительным течением, склонностью к обострениям и рецидивам, возникающим часто весной и летом [2]. Поэтому своевременная и адекватная терапия заболевания является залогом успеха предотвращения формирования экзематизации и хронического течения заболевания.

Главным возбудителем микоза стоп является *Trichophyton rubrum*, на 2 месте находится *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*. Возможны смешанные инфекции. Крайне редко микоз стоп вызывают другие дерматофиты. Но как раз дисгидротическая форма микоза стоп чаще вызывается *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* [3].

Федеральные клинические рекомендации по лечению микозов стоп и кистей терапию дисгидротической формы микоза предписывает терапию в 2 этапа начиная с примочек с последующим переходом на кремы [4]. Учитывая все вышесказанное, препаратами выбора для лечения дисгидротической формы микоза стоп будут противогрибковые средства, выпускаемые в двух лекарственных формах: растворе и креме, при этом обладающие сопутствующей противовоспалительной и антибактериальной активностью.

Наиболее современным лекарственным средством, удовлетворяющим данным критериям, является препарат Сертамикол.

Сравнительные исследования действующего вещества – сертаконазола, приведенные для молекулы в оригинальном препарате – с другими противогрибковыми молекулами демонстрируют не толькократно более высокую антимикотическую активность, обусловленную двойным механизмом действия из-за особенностей строения молекулы, но и превышающие уровни как антибактериальной, так и противовоспалительной активности, что подтверждено многочисленными клиническими исследованиями [5]. Мы использовали Сертамикол при дисгидротической форме микоза стоп, используя сначала раствор, а после купирования явлений экссудации и воспаления – в виде крема. Критериями включения в исследование было выполнение диагностического алгоритма, предложенного Н.Н. Клишко для микозов стоп и кистей [6]: клинические признаки микоза кожи в сочетании с выявлением мицелия дерматомицетов при микроскопии кожных чешуек.

По амбулаторным картам оценены 21 больной в возрасте от 19 до 64 лет. У каждого был первичный эпизод заболевания микозом в дисгидротической форме, хотя более половины из обследованных микозами стоп страдали и ранее. Высыпания были локализованы четко на стопах, больные не получали другой наружной терапии, кроме Сертамиколом по упомянутой схеме. Некомплаентность пациентов, не являющихся в контрольные сроки или отказывающихся от выполнения назначений по различным причинам, была причиной исключения при отборе больных в группу наблюдения.

Основным критерием эффективности терапии мы считаем сроки полного излечения больного. Дополнительно оценивались: сроки ухода субъективной симптоматики, сроки купирования экссудации, воспаления, мокнутия (момент перехода с раствора на Сертамикол крем), субъективная переносимость терапии и органолептическая оценка косметологических свойств.

Подробнее остановимся на методике первого этапа лечения – использования раствора. Несмотря на хорошие адгезивные свойства раствора, мы рекомендовали использовать стерильные марлевые салфетки малого размера, развернутые до 2-х слоев, смоченные без отжимания в растворе Сертамикола со сменой их 2 раза в день. Использование салфеток незначительно повышает расход препарата, но делает использование раствора на стопах довольно удобным. Надо отметить, что всем больным было достаточно одного флакона раствора (чаще с избытком) для купирования мокнутия, экссудации, острого местного воспаления и санации видимых очагов вторичной бактериальной инфекции. В период наложения влажной повязки

некоторые больные испытывали чувство жжения при контакте повязки с эрозированными поверхностями, которое в течение 15-20 минут проходило самостоятельно.

Срок перехода на кремовую форму Сертамикола составлял от 3 до 5 сут, купирование субъективной симптоматики свойственной дисгидротической форме микоза стоп проходило именно в период нанесения раствора в еще более короткие сроки от 2-х до 4-х суток. Крем переносился больными без каких-либо зафиксированных осложнений, в том числе и в момент нанесения. Органолептические свойства препаратов оценены больными весьма положительно. Для полного излечения больных потребовалось от 8 до 15 сут нанесения крема Сертамикола на 2-м этапе терапии.

Суммарные сроки лечения дисгидротической формы микоза стоп Сертамиколом составили от 11 до 20 сут (в среднем 14,6 суток) и определялись прежде всего степенью тяжести клинической картины на момент обращения больного. Что на фоне высокой комплаентности к терапии может быть признано отличным результатом. Представленный опыт может быть интересен практикующим микологам, как пример рационального использования различных форм выпуска препарата, а Сертамикол – как препарат, удовлетворяющий всем необходимым требованиям к современным топическим антимикотикам.

### Список литературы

1. Котрехова Л.П. Этиология, патогенез, клинические формы микоза стоп и основные методы его лечения. РМЖ. 2010: 12.
2. Тарасенко Г.Н., Тарасенко Ю.Г. Основы практической микологии. М.: ОАЗИС-Дизайн, 208: 120 с.
3. Наружная терапия микозов стоп (пособие для врачей). Под общ. ред. Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микол. 2005: 20 с.
4. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных микозами стоп и кистей. Под ред. В.С. Новоселова. М.: РОДВК, 2013: 17с.
5. Сергеев А.Ю., Иванов О.Л. Вопросы фармакокинетики и эффективность системной терапии онихомикозов. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2000; 2: 88-96.
6. Климов Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Рук. для врачей. 2-е изд. перераб. и доп. М.: Ви Джи Групп. 2008: 336 с.

## ОЦЕНКА МИКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА ПЕРЛИТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

*Яцына И.В., Лапина Е.Е.*

*ФНЦ гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Мытищи*

Одним из основополагающих условий создания системы гигиенической безопасности и оптимизации здоровья работающих является улучшение условий труда [1]. Роль микотической инфекции определяется сенсibiliзирующими свойствами грибов, создающими неблагоприятный фон для развития профессиональных дерматозов у работающих в условиях комплексного воздействия химических веществ и микроклимата производственной среды. В свою очередь среди больных профзаболеваниями кожи подтверждено более частое развитие микозов стоп, чем в других группах. Установлена также, роль производственного микроклимата в частоте возникновения микозов стоп на отдельных производствах, суммарное воздействие факторов, которого способствует не только инфицированию работающих, но и развитию клинических проявлений заболевания и осложнений [2,3].

Результаты гигиенических исследований показали, что в процессе трудовой деятельности работающих на перлитном производстве имеет место, сочетанное воздействие комплекса неблагоприятных производственных факторов у рабочих основных профессий (дробильщики теплоизоляционного сырья, обжигальщики теплоизоляционных изделий, сортировщики-упаковщики теплоизоляционных изделий, наладчики оборудования в производстве теплоизоляционного сырья): запыленность перлитом рабочей зоны, химические вещества (оксиды азота, едкие щелочи, минеральные масла, предельные углеводороды, оксид углерода), неблагоприятный микроклимат, контакт с перлитом.

Исследование проводилось в 2-х основных группах: первая группа – рабочие, имеющие непосредственный контакт с перлитным песком; вторая группа – работники административно-управленческого аппарата (заводоуправление), не имеющие непосредственного контакта с перлитным песком.

Установлено, что кожные заболевания на перлитном производстве занимают шестое ранговое место 4,1% в общей заболеваемости работающих. Среди группы дерматозов – 76,5% составляет микотическая инфекция. В структуре диагностированных микозов, которые встречались в 54,3% случаев.

Установлено, что стаж работы по специальности отражает накопленную дозу воздействия факторов производственной среды и следствием этого может быть накопление неблагоприятных изменений в состоянии здоровья рабочих. Проведенный анализ микотических поражений у рабочих перлитного производства с учетом стажа показал, что показатель заболеваемости составляет 1–4 г. (50,9 % случаев), 5–10 и 11–20 лет, соответственно 21,9 и 36,0 случаев и 21,3 и 33,0 случаев. Коэффициент корреляции между стажем работы и уровнем заболеваемости микозами  $r=1,0$  ( $p < 0,01$ ). При клиническом осмотре больных микозами стоп обращает на себя внимание множественный характер поражения грибковой инфекцией стоп и кистей. Так, поражение ладоней, подошв и межпальцевых складок зарегистрировано у 64% больных. Также отмечено преобладание в данной группе обследованных гиперкератотической и сквамозно-инфильтративной форм микоза, характеризующая гиперемией, сухостью кожи, небольшими участками гиперкератоза, муковидным шелушением и болезненными трещинами. Сквамозно-инфильтративная форма проявлялась в виде очагов поражения синюшного цвета, с выраженной инфильтрацией и отеком, небольшим количеством серо-желтоватых чешуек. Онихомикоз был зарегистрирован у 89% данной категории больных и характеризовался гипертрофическим типом и множественным характером поражения от 4 до 7 ногтевых пластин с вовлечением в патологический процесс ростковой зоны ногтей.

Кроме того, нами выявлены микотические поражения гладкой кожи, преимущественно кератомикозы (отрубевидный лишай – 13,3% случаев; эритразма – 8,4% случаев). У всех пациентов клинический диагноз микоза стоп был подтвержден бактериологическим методом. Доминирующим возбудителем оказался *T. rubrum* S., выявленный в 67,3% случаев. Частота обнаружения *T. interdigitale* В. составила 3%, *Candida* и плесневых грибов – 4%. Сочетание двух возбудителей, таких как *T. rubrum* и *T. interdigitale*, *T. rubrum* и *Epidermophyton floccosum* диагностировано в 4% случаев.

Основными средствами этиотропной терапии микозов являются антифунгальные антибиотики и обладающие антифунгальным действием препараты из группы азолов [4,5]. Они использовались нами для системной и местной терапии микозов, часто в сочетании в зависимость от высеваемого возбудителя.

С целью профилактики развития микотической инфекции нами были сформированы основные направления: ликвидация путей распространения инфекции (регулярный контроль за санитарным

состоянием и систематическая дезинфекция производственных душевых; соблюдение правил личной гигиены (дезинфекция обуви, тщательная обработка белья, носков, чулок); активное выявление и лечение больных микозами стоп, особенно со стертыми формами и миконосителей; санитарно-просветительская работа в первую очередь должна быть направлена на разъяснение правил индивидуальной профилактики.

Таким образом, условия труда перлитного производства способствуют развитию не только профессиональной патологии кожи, но и обуславливают развитие повышенной сенсibilизации организма работающих к грибковому антигену, что формирует необходимость глубоко клинического обследования работающих в условиях перлитного производства, страдающим микозами для обоснования комплекса лечебно-профилактических мероприятий, направленных на предупреждения распространения грибковой инфекции.

### Список литературы

1. Пиктушанская Т.Е. Профессиональные заболевания как критерий оценки и управления профессиональным риском. Мед. труда и промышл. экол. 2009; 1: 32–7.
2. Драчева Е.Е. Оценка дерматологической заболеваемости работающих в контакте с перлитным песком. Здоровоохранение Российской Федерации. 2011; 5: 55-6.
3. Яцына И.В., Коновалова Т.А. Профессиональные аллергические дерматозы химической этиологии (клиника, диагностика, профилактика). М.: Медицина, 2004: 288 с.
4. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. 2-е изд. А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев, М.: «Бином-Пресс». 2008: 480 с.
5. Местная и комбинированная терапия онихомикозо». Пособие для врачей. 2-е изд. Под ред. Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микол. 2013: 40 с.

## ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ МИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ

Зорин А.Н., Катцына Г.И., Анисимова Е.А.

Красноярский краевой кожно-венерологический диспансер №1  
Красноярский ГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого

**Цель исследования** – изучение видового спектра возбудителей микозов у больных жителей Красноярского края.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были 1330 больных обратившихся в микологический кабинет с подозрением на наличие микоза. Лабораторная диагностика осуществлялась микроскопическим и культуральным исследованием.

**Результаты исследования.** Из обследованных 1330 больных поверхностные микозы составляли 98,4%, инвазивные 1,6%. Возрастная медиана составляла от 4 до 87 лет. Мужчины составляли 27%, женщины 73%. Инвазивные микозы представлены кандидозным глосситом 73%, ринитом, отитом, проктитом по 6,6 – 6,7%. Во всех случаях высевалась *S. albicans*. Поверхностные микозы с поражением ногтевых пластин 95%, микозы кожи и волосистой части головы – 5%. Выявлены ониходистрофии у 24% больных. Среди микологических больных подтверждена микологическая патология при микроскопии – 74%, посевах – 73%. У 728 больных с положительным культуральным анализом сочетанная инфекция выявлена в 22,8% случаев.

Соотношение дерматомицеты/нитчатые недерматомицеты/дрожжи среди возбудителей микозов составляют 1: 1,5: 0,8. Видовой состав выявленных микромицетов достаточно широк. Среди 230 культур дерматомицетов 31% представлен *Tr. rubrum*, по 17% *Triophyton* spp., *Tr. mentagrophytes*, *Tr. interdigitale*, 9,6% – *Tr. tonsurons*. При поражении кожи и волосистой части головы трихофития выявлена у 20 больных, а микроспория только у 6, что соответствует 8,9% и 2,6%. Нитчатые недерматомицеты представлены в 341 культуре: 16% – *Asp. niger*, 9,7% – *Mucor* spp., 6,7% – *Alternaria alternata*, по 4% *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp. и *Rizomucor* spp., 2,9% – *Scopulariopsis breavicalis*, в тоже время 36% *Penicillini* spp. Среди дрожжей выделено 195 культур: 60% – *S. albicans*, 13% – *Candida* spp., 10% – *S. kefyri*, 5,6% – *S. parapsilosis*. Онихобактериоз у микологических больных с поражением ногтевых пластин выявлен в 20% случаев.

**Выводы.** Каждый регион имеет свои особенности спектра микромицетов выявляемых у больных.

## **Глава 2**

---

# **Проблема онихомикозов**

## **Chapter 2**

---

# **Solving the problem of onychomycosis**

## ИТРАКОНАЗОЛ В ЛЕЧЕНИИ ОНИХОМИКОЗОВ

*Абдрашитов Ш.Г., Джусунгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш.*

*НИКВИ МЗ РК, Алма-Ата, Казахстан*

Грибковые заболевания кожи и слизистой оболочки являются одной из современных проблем дерматологии. В структуре кожной патологии микозы занимают одно из ведущих мест. Возможной причиной роста дерматомикозов является наличие иммунодефицитных состояний организма.

**Целью исследования** – определение эффективности безопасности и переносимости системного антимикотика, препарата итракон (итраконазол), у больных с онихомикозом.

В исследование были включены 21 больной с диагнозом онихомикоз стоп. Среди них: 15 мужчин и 6 женщин в возрасте от 19 до 65 лет с давностью заболевания от 3 до 8 лет. У всех больных диагноз был поставлен на основании клинических данных, микроскопическом обнаружении грибов, а также подтвержден культуральным исследованием. У всех больных выявили руброфитию стоп.

Лечение проводили по принципу пульс-терапия: ежедневный прием 400 мг итракона (по 2 капсулы 2 раза в день) в течение 7 дней для лечения грибковых поражений ногтевых пластинок стоп. Каждому больному было проведено по 3 курса терапии с интервалом в 3 недели между курсами, то есть первая, пятая и девятая недели.

Все больные переносили терапию хорошо, побочных эффектов и осложнений не отмечалось. Общеклинические анализы крови, мочи, биохимические показатели до и после лечения оставались в пределах нормы. Эффективность препарата оценивали по росту здоровой ногтевой пластины к концу третьего месяца лечения; на  $\frac{2}{3}$  от матрикса отрастали на вид здоровые ногти. Эффект проведенной пульс-терапии Итраконом был отмечен у всех больных.

Таким образом, итракон является эффективным системным антимикотиком, хорошо переносится больными. Отсутствие побочных эффектов, отклонение от нормы в лабораторных показателях, экономическая целесообразность позволяет рекомендовать итракон как препарат выбора при лечении онихомикозов.

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ОНИХОМИКОЗОВ

Акмаева А.Р, Олисова О.Ю., Пинсон И.Я.

Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова

Онихомикозом называют инфекционное заболевание ногтей грибковой этиологии, вызываемое дерматомицетами, дрожжевыми или плесневыми грибами. Данная патология является актуальной в связи с распространением и сложностью в лечении.

Цель исследования – изучить эффективность лазерной терапии в лечении больных онихомикозом.

**Материалы и методы.** На базе кафедры кожных и венерических болезней Первого МГМУ имени И.М. Сеченова проводится исследование по эффективности и безопасности лазерной терапии у больных онихомикозом. Всего в исследовании участвовало 40 больных с диагнозом онихомикоз стоп (мужчин – 12, женщин – 28), в возрасте от 32 до 80 лет с продолжительностью заболевания от 1 до 10 лет. Лабораторно подтвержденным (микроскопически и культурально) диагнозом онихомикоз стоп с выявлением дерматофитной флоры (*Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *Epidermophyton floccosum*).

Клиническая картина поражения ногтевых пластин у пациентов характеризовалась утолщением, неровной поверхностью, подногтевым гиперкератозом, изменением цвета ногтей; они представлялись тусклыми, серо-желтого цвета, крошились. Индекс КИОТОС у пациентов составил: у 13 больных – 6–8, у 18 больных – 9–16, у 9 – 16–20. Всем больным проводилась лазерная терапия по методике – 1 процедура каждые 2 нед (т.е. 2 раза в мес), в течение 4 – 6 мес. Всего пациенты получали от 8 до 12 процедур.

Проводилось лечение на многофункциональной модульной технологической платформе системы Harmony XL (Alma Lasers), которая сочетает в себе две лазерные технологии для лечения онихомикоза: Q-Switched 1064/532 нм и Nd:YAG: 1064 нм. В начале процедуры подключается лазерная насадка с Q-Switched 1064/532 нм-лазером с модуляцией добротности, который действует на оболочку спор гриба, имеющую пигмент, в результате чего оболочка спор разрушается. Затем подключалась лазерная насадка с Nd:YAG: 1064 нм. Этот лазер вызывает неспецифический, кратковременный нагрев тканей свыше 40 °С, глубоко, до 7 мм, прогревая ногтевую пластинку и ложе ногтя, что позволяет уничтожить мицелий гриба.

Одна процедура с двумя насадками занимала от 20 до 30 минут на 10 пальцах кистей или стоп. Каждая пораженная ногтевая пластинка подвергалась воздействию импульсов двух лазеров по вертикали и горизонтали, таким образом, захватывая всю поверхность ногтя. Таким образом, лазерный луч, проникая в ноготь и под ногтевую пластинку, действует фунгистатически и фунгицидно на мицелий гриба, не повреждая саму ткань. Во время процедуры анестезии не требуется, пациент может ощущать небольшое покалывание и жжение.

**Результаты и выводы.** В итоге проводимого лечения у большинства больных – 28 пациентов – уже через месяц после лечения наблюдалось улучшение в виде отрастания нормального цвета ногтевых пластинок стоп с корневой части. Через четыре месяца лечения у 14 пациентов было отмечено клиническое излечение, а через шесть месяцев после начала лазерной терапии, у 36 пациентов было зафиксировано клиническое излечение, лабораторно подтвержденное результатами, у 4 пациентов наблюдалось значительное улучшение, этим пациентам лечение было рекомендовано продолжить. Все больные лазерную терапию переносили хорошо, 18 пациентов во время процедур ощущали покалывание и небольшое жжение, не требовавшее прекращения лечения.

**Вывод.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что лазерная терапия онихомикозов с помощью данных технологий является эффективным и безопасным методом лечения.

## ЛЕЧЕНИЕ ОНИХОМИКОЗА ПРЕПАРАТОМ «ИРУНИН»

Файзуллина Е.В.

Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ

**Цель исследования** – проанализировать основные тенденции распространенности онихомикоза по результатам лечения 163 пациентов препаратом итраконазолового ряда «ирунин». Мужчин – 53 (32,7%), женщин – 110 (67,3%) человек. Контрольную группу составили 217 пациентов, пролеченных препаратами других фармакологических групп (тербинафины, аллиламины, кетоконазолы и др.).

**Результаты.** У пациентов с онихомикозом, пролеченных препаратом итраконазолового ряда «ирунин» при поражении грибами рода *Tr. rubrum* значительно преобладали тотально – дистрофические поражения ногтевых пластинок в 39,4% случаев ( $p < 0,001$ ), реже отмечались проксимальный и дистально-латеральный типы поражения ногтевых пластинок, составляя соответственно 3,3% и 5,8%. При поражении грибами рода *Candida albicans* преобладал проксимальный тип онихомикоза, наблюдавшийся в 76,7% случаев ( $p < 0,001$ ), что вполне сопоставимо с группой пациентов, получающих антимикотическую терапию препаратами других фармакологических групп.

У пациентов, получавших лечение препаратом «ирунин» с дистально-латеральной формой болезни элементы гриба не обнаруживались в 36,5% случаев, тогда как у больных с проксимальными поражениями отрицательный результат посева имел место только в 13,3% ( $p < 0,05$ ). Среди пациентов с онихомикозом, получавших «Ирунин» значительно преобладали лица с наличием эндокринопатий, болезней обмена, тяжелой соматической патологии 24,5% ( $p < 0,001$ ), то есть 1/4 от общего числа больных. Положительный результат лечения (полное клинико-лабораторное излечение) диагностировано у 117 больных (72,0%), по сравнению с пациентами онихомикозом, пролеченными с помощью препаратов других фармакологических групп – 119 (55,0%;  $p < 0,05$ ). Полученные данные свидетельствуют о возможности использования препарата «ирунин» у взрослых пациентов с онихомикозом всех возрастных групп, имеющих коморбидные состояния, а также артефактами лабораторных исследований в диагностике микозов.

## ПЕРСониФИЦИРОВАННАЯ ФАРМАКОТЕРАПИЯ В ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ

*Герасимчук Е.В., Гладько В.В., Герасимчук М.Ю.*

*Поликлиника филиала №6 3 ЦВКГ им. А.А. Вишневского*

*МО РФ, Москва*

*МИУВ МГУПП, Москва*

*Первый МГМУ имени И.М.Сеченова, Москва*

**Цель исследования** – в условиях доказательной медицины считать статистически необходимое количество цитологических исследований патологического материала с клинически измененных ногтевых пластинок для верификации диагноза онихомикоза и ониходистрофии и назначения персонифицированной системной и наружной противогрибковой фармакотерапии у геронтологических больных.

**Материалы и методы.** медицинские амбулаторные карты, данные лабораторных ответов микроскопии у больных ( $n=148$ ) в возрасте от 75 до 93 лет, по классификации ВОЗ соответствующих “старым людям”, с возрастной медианой  $79,3\pm 4$  г., из которых женщин – 18 человек (15%), мужчины – 30 человек (85%).

**Результаты.** У 96 больных (65%, от общего числа исследуемых) верифицирован диагноз онихомикоза (по МКБ – В35.1). Диагностический индекс онихомикоза – Клинический индекс оценки тяжести онихомикоза Сергеева (КИОТОС) составил от 7,6 до 30 баллов, в среднем – 16,6. Для постановки диагноза онихомикоза у 67 больных (70,1% от общего количества больных с онихомикозом) потребовалась однократная цитология, двукратная – у 16 больных (16,4%), трехкратная – у 13 больных (13,5%). Диагноз ониходистрофии (по МКБ – L60.3) верифицирован при получении трехкратного отрицательного цитологического ответа у 52 больных (35%, от общего количества исследуемых).

**Вывод.** Для назначения персонифицированной и профилактики ятрогенной антифунгальной фармакотерапии при клинически измененных ногтевых пластинках у геронтологических больных необходимо проведение трехкратного цитологического исследования.

## АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НОГТЕВЫХ ПЛАСТИНОК В НОРМЕ, ПРИ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ

*Герасимчук М.Ю., Сапин М.Р., Герасимчук Е.В.*

*Первый МГМУ имени И.М.Сеченова, Москва*

*3 ЦВКГ имени А.А.Вишневого, Москва*

**Актуальность проблемы.** Несмотря на успехи фармацевтической промышленности в создании современных эффективных пероральных и местных химиотерапевтических и фитоароматерапевтических средств для лечения заболеваний ногтей, данная патология в структуре заболеваемости дерматологических больных по литературным данным и данным авторов по кожно-венерологическому отделению за последние 10 лет не убывает, а увеличивается, занимая 1- – 4-е места [1–4].

**Цель исследования** – изучение анатомических особенностей ногтевых пластинок в норме, при соматической патологии и инфекционном поражении.

**Анатомическое строение ногтя.** Ногти, *ungtlis* (греч. *onychos*) – производные эпидермиса, несколько выпуклые в поперечнике роговые пластинки, покрывающие с тыльной стороны дистальные фаланги пальцев верхних и нижних конечностей. В ногте различают тело (*corpus unguis*), корень (*radix unguis*), и четыре края: свободный (*margo liber*), скрытый (*margo occultus*), и два боковых, латеральных (*margines laterals*). Ноготь лежит в ложе (*matrix unguis*), образованном соединительной тканью собственно кожи и ростковым слоем эпидермиса. На поверхности ногтевого ложа имеются продольно идущие гребешки (*cristae matricis unguis*). Ногтевое ложе ограничено в проксимальном отделе и с боков бороздой ложа ногтя (*sulcus matricis unguis*). Над бороздой возвышается валик (*vallum unguis*). Ростковый эпителий ногтевого ложа, за счет которого происходит рост ногтя, особенно сильно развит в области корня ногтя. Этот участок просвечивает сквозь ногтевую пластинку в виде светлого полумесяца и носит название луночки (*lunula*). Ногти наряду с волосами и кожными железами относятся к придаткам кожи [5].

**Причины заболевания ногтей.** Изменение аппарата ногтя традиционно связывают именно с грибковыми поражениями, хотя на самом деле оно может быть обусловлено многими патологическими процессами (табл. 1).

Таблица 1. Классификация патологических изменений ногтей по этиологическому принципу

Патологические изменения ногтей	Краткая характеристика
При кожных болезнях	Формы: экзематозная, нейродерматитная и пр. Могут сопровождать такие кожные заболевания, как очаговое облысение, буллезный эпидермолиз, ихтиоз, красная волчанка и другие дерматозы.
При системных заболеваниях	Синдром желтых ногтей, сифилис аппарата ногтя, патологические изменения ногтей при генерализованной гонорее, при лепре, туберкулезе. Изменения ногтей при нервных и психических болезнях – онихотилломания, онихофагия.
Травматические и профессиональные	Травматические: подногтевая гематома, геморрагии, повреждения при маникюре и педикюре, “вросший ноготь”, заусенцы. Профессиональные: вибрационные и др.
Врожденные, наследственные	Анонихия, пахионихия, патологические изменения ногтей при врожденной эктодермальной дисплазии, онихоosteодисплазия, невоидные изменения ногтей, различные онихозопатии при наследственных синдромах.
Новообразования аппарата ногтя	Доброкачественные: околоногтевые и подногтевые новообразования (бородавки, фибромы, хондромы, экзостоз), дермоидная киста, кератоакантома, пиогенная гранулема ногтевого ложа, гломусная опухоль Баре–Массона. Злокачественные: рак аппарата ногтя (базальноклеточный и плоскоклеточный), меланомы ногтевого ложа и матрицы ногтя, подногтевая саркома.

Инфекционные заболевания ногтей	Грибковые заболевания (онихомикозы): руброфития, эпидермофития, трихофития, кандидамикоз ногтевых валиков и ногтей. Бактериальные инфекции: пиококковые, дифтерийные, вызванные синегнойной палочкой, лейшманиоз ногтевых валиков. Вирусные заболевания: простой герпес. Клещевые поражения: поражение ногтей при чесотке, других клещевых дерматозах.
---------------------------------	---

Клинически измененные ногтевые пластинки наблюдаются при многих заболеваниях внутренних органов.

Линии Мюрке, две белые полосы на ноге, параллельные луночке, не смещающиеся по мере роста ногтя – признак гипоальбуминемии. Симптом Терри, при котором проксимальные две трети ногтя имеют белый цвет, а дистальная – розовый, встречается при сердечной недостаточности и циррозе печени. Двухцветный ноготь: розовая или коричневая дистальная половина резко отделена от молочно-белой проксимальной половины ногтя, обнаруживается у 10% больных с уремией. Голубой и сине-серый цвет ногти приобретают под действием противомаларийных препаратов, миноциклина, нитрата серебра (арироз), гемохроматозе, болезни Вильсона и алкаптонурии. Опухоль Кенена (околоногтевая фиброма) при туберозном склерозе характеризуется появлением на заднем ногтевом валике продольного желобка.

Синдром желтых ногтей включает триаду признаков: дистрофия и желтая окраска ногтей; патология лимфатической системы (аплазия, лимфангиэктазия, лимфедема, лимфангиит) и заболевание органов дыхания (bronхоэктазы, плевральный выпот) или злокачественное новообразование (лимфогранулематоз, рак тела матки, меланома, неходжкинская лимфома). Онихолиз встречается при тиреотоксикозе, при этом первым поражается безымянный палец (ноготь Пламмера), при онихомикозе, псориазе, травме, воздействии химических соединений. Телеангиэктазии ногтевого валика служат надежным диагностическим признаком коллагенозов.

Продольные подногтевые кровоизлияния могут иметь различную природу: множественные посттравматические локализируются в дистальном отделе ногтевого ложа, при инфекционном эндокардите обычно поражается центральный отдел. Линии Бо, поперечные углубления на ногтевой пластинке, появляются при инфаркте мио-

карда, тромбозмболии легочной артерии, шоке, высокой лихорадке. Койлонихия (ложкообразные ногти) характерна для железодефицитной анемии и синдрома Пламмера–Винсона, синдрома Рейно, гемохроматоза. Симптом барабанных палочек (ноготь Гиппократа) появляется при заболеваниях сердца (цианотические пороки, инфекционный эндокардит), органов дыхания (первичный рак или метастатическая опухоль легкого, бронхоэктазы, абсцесс легкого, мезотелиома плевры) и брюшной полости (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, цирроз печени). Коричневые ногти – при первичной надпочечниковой недостаточности синдроме Нельсона, гемохроматозе, лечении препаратами золота, отравлении мышьяком. Подногтевая меланома была впервые описана Гетчинсом под названием «меланотическая ногтееда»; сейчас ее считают одной из форм акральная лентигинозной меланомы.

Все многообразие клинических симптомов поражения ногтевых пластинок можно разделить на три основные группы (табл. 2).

Таблица 2. Патологические изменения ногтей

Тип изменения	Внешние признаки
Атрофические	Онихолизис и онихомадез – нарушение связи ногтевой пластинки с ногтевым ложем соответственно с дистального и проксимального краев. Койлонихии – углубление в центре ногтевой пластинки. Онихорексис и онихошизис – соответственно продольное и пластинчатое расщепление ногтевой пластинки. Поперечная борозда ногтя и продольные борозды. Гапалонихия – размягчение ногтевой пластинки.
Гипертрофические	Онихауксис – утолщение ногтевой пластинок, увеличение ее размеров, потеря прозрачности. Гиперкератоз – избыточное развитие роговых масс под ногтевой пластиной ближе к свободному краю.
Расстройства пигментации	Лейконихия – наличие в толще ногтевой пластинки участков белого цвета. Другие расстройства пигментации.

Несмотря на сходные изменения ногтевых пластинок, этиология возбудителя может быть различной. В особую группу выделяются собственно инфекционные заболевания ногтей – онихомикозы (*Tinea unguium*, код по МКБ – 10 В35.1). Основными возбудителями онихомикозов традиционно считают дерматомицеты (*Trichophyton rubrum*), реже дрожжевые грибы (*Candida albicans*) и плесневые грибы-недерматофиты (*Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus* spp., *Cladosporium* и др.) [6]. Встречаются немногочисленные исследования, в которых наряду с грибковой микробиотой в пораженных ногтевых пластинках обнаруживали бактерии (онихобактериоз) при культивировании или при электронной микроскопии.

При постановке диагноза решающее слово остается за микроскопическим анализом (изучение соскоба с пораженного участка под микроскопом) и результатом микробиологического исследования (посев культуры и определение типа возбудителя).

Для правильного выбора лекарственной терапии необходимо учитывать клинические типы онихомикозов: дистально-латеральный, белый поверхностный, проксимальный подногтевой и проксимальный белый подногтевой и тотальный дистрофический. Для выбора метода терапии в микологии используется индекс КИОТОС со специально разработанной линейкой, подготовленный А.Ю. Сергеевым по материалам работы “Индекс для клинической оценки онихомикоза и расчета продолжительности терапии системными антибиотиками” (1999 г.).

**Вывод.** Анатомические особенности ногтевых пластинок являются отражением внутреннего гомеостаза организма. При лечении инфекционных заболеваний ногтей для правильного выбора лекарственной терапии, необходимо учитывать анатомические характеристики измененных ногтевых пластинок.

### Список литературы

1. Лещенко В.М. Современная микология в России. 2002; 1: 328.
2. Сергеев Ю.В., Шпигель Б.И., Сергеев А.Ю. Фармакотерапия микозов. М.: Медицина для всех. 2003: 200.
3. Рукавишников В.М. Микозы стоп. М. 1999: 4.
4. Герасимчук Е.В., Герасимов В.В., Молчанов Б.А. Новый подход в лечении онихомикоза стоп и кистей в амбулаторных условиях. Военно-мед. журн. 2005; 1: 44.
5. Анатомия человека. М.: Медицина. 2001: 622-623.
6. Руководство по лабораторной диагностике онихомикозов. Под ред. А.Ю. Сергеева. – М.: ГЭОТАР Медицина. 2000: 13, 21, 71-72.

## РАЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ТЕРАПИИ ОНИХОМИКОЗОВ У ЛИЦ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА

Якубович А.И., Чащин А.Ю.

*Кафедра дерматовенерологии с курсом медицинской косметологии  
ИГМУ, Иркутск*

Заболеваемость дерматомикозами в общей популяции населения составляет около 20%, а у лиц пожилого и старческого возраста достигает 80%. Микозы кожи чаще встречаются у больных, страдающих соматическими и эндокринными заболеваниями, а также у лиц с нарушением периферического кровообращения [1].

Наиболее высока распространенность онихомикоза у пожилых лиц, неуклонно возрастая с 50-летнего возраста [2]. Этому способствуют снижение скорости роста ногтевых пластин, нарушение трофики ногтевого ложа. Периферические ангиопатии, ожирение, деформации стопы, сахарный диабет, иммунодефицитные состояния являются предрасполагающими факторами в развитии онихомикозов [3]. Длительный прием кортикостероидных препаратов, цитостатиков и антибиотиков также увеличивает риск заболевания.

Стратегия лечения определяется клинической формой дерматомикоза и его распространенностью. Местное лечение назначается при ограниченном микотическом поражении кожного покрова, а также при онихомикозе не более 1 ногтевой пластинки, пораженной не более чем на 1/3 с дистального конца. Исключение составляют больные сахарным диабетом, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, гепатобилиарной и мочевыделительной систем. В процессе патогенетической терапии необходимо добиться улучшения микроциркуляции в дистальных отделах конечностей, улучшение венозного оттока, нормализация уровня тиреотропных гормонов у пациентов с заболеваниями щитовидной железы, нормализация углеводного обмена у больных сахарным диабетом и т.д. У лиц пожилого возраста часто наблюдается гипертрофический тип онихомикоза, трудно поддающийся лечению. Наличие дерматофитомы [4] и сосудистых изменений также осложняет системную терапию. Поиск метода терапии онихомикоза без использования системных противогрибковых препаратов представляется актуальным.

**Цель исследования** – изучение эффективности местной терапии у больных онихомикозами. с различной соматической патологией, не позволяющей назначить системные противогрибковые препараты.

Под наблюдением находились 25 пациентов – (17 мужчин и 8 женщин в возрасте от 50 до 70 лет), страдающих дистальным, дистально-латеральным онихомикозом. Давность заболевания составляла от 8 мес. до 10 лет. Диагноз «онихомикоз» подтвержден микроскопически. Лечение назначалось пациентам с поражением не более трех ногтевых пластинок, пораженных не более чем на 1/3 с дистального конца.

Больные получали наружную противогрибковую терапию лосьоном Микостоп 2 раза в день утром и вечером по 1–2 капли на ногтевое ложе. Молочная кислота, входящая в состав лосьона, проникала на всю толщину ногтя, создавала кислую среду, губительную для патогенного гриба. При регулярном использовании лосьона отмечался кератолитический эффект, что позволяло пациентам самостоятельно подчищать измененную ногтевую пластинку.

Для улучшения проникновения лосьона Микостоп в ногтевое ложе перед началом лечения и в процессе использовалась крем-паста Микостоп на 2–4 сут, содержащая 40% мочевины, после чего проводилась механическая подчистка ложа. Также во время всего лечения пациенты проводили обработку обуви спреем Микостоп каждые 2 нед по 3 сут подряд на ночь.

Период наблюдения за данной группой пациентов составил 6 месяцев. У 76% пациентов мы отметили клиническое и микологическое излечение. Шесть пациентов после начала отрастания здоровой части ногтя перестали посещать врача. В ходе исследования побочных эффектов зарегистрировано не было.

Таким образом, можно заключить, что препараты серии Микостоп являются высокоэффективными в качестве монотерапии у пациентов пожилого возраста, при невозможности использования системных антимикотиков.

### Список литературы

1. Котрехова Л.П. Тактика лечения дерматомикозов у больных пожилого возраста. Лечащий врач. 2004;2: 27-30.
2. Сергеев Ю.В., Мокина Е.В., Сергеев А.Ю. и др. Местная и комбинированная терапия онихомикозов. Пособие для врачей. М.: Нац. акад. микол. 2013: 40 с.
3. Сергеев Ю.В., Бунин В.М., Сергеев А.Ю. Поликлинические микозы. Кремлевская Медицина. 2010; 3: 18-25.
4. Roberts DT, Evans EG. Subungual dermatophytoma complicating dermatophyte onychomycosis. Br J Dermatol. 1998; 138(1): 189-90.

## ОНИХОДИСТРОФИИ У ДЕТЕЙ В ПРАКТИКЕ МИКОЛОГА

*Касихина Е.И.*

*Кафедра дерматовенерологии, микологии и косметологии  
УНМЦ УДП РФ, Москва*

Заболевания и дефекты ногтевых пластинок встречаются часто и проявляются весьма разнообразно. Диагноз ониходистрофии правомочен только после исключения грибковой инфекции как дерматофитной, так и недерматофитной этиологии. Последняя в детской практике стала встречаться гораздо чаще в связи с ростом эндокринной патологии у детей (сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидит, ожирение и т.д.). Онихомикозы у больных с ониходистрофиями встречаются в 24–50% случаев, что свидетельствует о том, что структурные изменения ногтевых пластинок при дерматозах являются предрасполагающим фактором колонизации их грибами.

Спровоцировать нарушение нормального роста придатков кожи могут различные соматические заболевания, инфекции, нервные стрессы. Интересно, что идиопатические ониходистрофии – удел детей (преимущественно девочек) младшего и среднего школьного возраста (от 7 до 12 лет), проживающих в крупных городах. Здесь очевидна роль экологических и стрессовых факторов. Большинство родителей признают, что основу диеты школьника могут составлять фастфуды, результатом которой являются функциональные нарушения в работе желудочно-кишечного тракта и недостаток необходимых микронутриентов, обеспечивающих полноценную работу антиоксидантной защиты организма (цинк, селен, железо, медь).

Показана связь между темпами развития онихолизиса и активностью ферментов, обеспечивающих антиоксидантную функцию. Оказалось, что степень выраженности онихолизиса зависит от активности щелочной фосфатазы. Была установлена корреляция между уровнем активности в крови ферментов супероксиддисмутазы и каталазы и падением в сыворотке крови активности щелочной фосфатазы [1]. Клинико-биохимическим анализом выявлена зависимость между повышением содержания пептидосвязанного оксипролина и снижением активности щелочной фосфатазы и наличием раннего симптома – расслоения ногтя. Степень повышения уровня пептидосвязанного оксипролина несет информацию о ранних проявлениях повреждения, что имеет диагностическое значение и

позволяет своевременно назначать лечение. Выраженное увеличение содержания пептидносвязанного оксипролина на фоне снижения активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови в группе молодых людей при ониходистрофии может отражать активацию адаптивных реакций. Чем старше организм, тем меньше интенсивность адаптивной реакции организма на воздействие гипоксии, являющейся одной из основных причин ониходистрофии [2].

Следует отметить еще одну клиническую особенность: у 90% детей наблюдается сочетание ониходистрофий и заболеваний опорно-двигательного аппарата (сколиоз, остеохондроз, вальгусные деформации стопы, плоскостопие и пр.), а также проявлений диффузной дисплазии соединительной ткани (ДСТ). Фенотип ребенка с ДСТ включает синдром мобильности суставов, деформации позвоночника, малые аномалии сердца, малые аномалии развития желчного пузыря, нарушение рефракции, синдром вегетативных дисфункций и др.). В свете вышесказанного успех лечения таких детей с ониходистрофиями решает комплексная терапия, направленная на коррекцию выявленных нарушений и рекомендованная неврологом, ортопедом, кардиологом или педиатром.

Зарубежные авторы ведущей причиной ониходистрофий у детей называют наследственные заболевания кожи, а также *lichen striatus*. Французскими учеными описано около 30 случаев поражения ногтевых пластин при *lichen striatus* у детей в возрасте от 3 до 10 лет. В таких случаях изменения ногтей проходят спонтанно, как и основное заболевание в интервале от 9 месяцев до 1 года [3]. Также появились работы, которые проводят связь между инфекцией Т-лимфотропного вируса человека типа 1 (HTLV-1) и развитием ониходистрофий у лиц разного возраста, в том числе у детей [4].

Клинически торпидные к лечению ониходистрофии на кистях рук проявляются стойким дистально-латеральным онихолизисом с умеренно выраженным гиперкератозом. Поражаются ногтевые пластины I-II, реже III–IV пальцев на обеих руках. На стопах ногтевые пластины чаще имеют тенденцию к утолщению и ассиметричную локализацию. Все лечебные мероприятия по коррекции онихопатий у детей должны проводиться только после консультации миколога и тщательного микологического и клинико-лабораторного обследования. Для успешного лечения важно поставить правильный диагноз и определить все причины, которые могли вызвать заболевание.

Терапия торпидных к лечению ониходистрофий должна быть обязательно комплексной, и учитывать особенности организма и ритма жизни ребенка. Главной целью лечения должно стать уstra-

нение причины и восстановление питания аппарата ногтя и тканей вокруг него. Лечение онихолизиса включает в себя медикаментозные препараты, улучшающие микроциркуляцию и укрепляющие стенки сосудов, а также физиотерапевтические методы лечения и массаж. Обязательно в комплекс лечения входят средства, успокаивающие нервную систему и средства, восстанавливающие эмоциональный фон.

Эффективность наружного лечения повышают аппликации теплым натуральным воском, который содержит большое количество питательных веществ, а также аппликации парафином, озокеритом, лечебными грязями. Лечение ониходистрофии может включать ионофорез, диатермию, фонофорез с витаминами А и Е. Физиотерапевтические процедуры назначают курсами по 10–15 процедур, делая перерыв на 1–2 мес. Есть данные об эффективности фотофореза Лонгидазы 3000 МЕ в комплексном лечении ониходистрофий, которые свидетельствуют о положительном влиянии данного метода на состояние микроциркуляции в области ногтевого ложа [5]. Гиперкератотические изменения ногтей хорошо отзываются на наружное применение средств с мочевиной, низких концентраций салициловой кислоты и топических ретиноидов на основе мази.

### Список литературы

1. Темников В.Е., Уразовская Е.В., Микашинович З.И., Коваленко Т.Д. Активность супероксиддисмутазы, каталазы в эритроцитах и щелочной фосфатазы сыворотки крови при ониходистрофии у женщин в стадии отторжения ногтя. *Клин. лаб. диагн.* 2010; 8: 23-5.
2. Уразовская Е.В., Микашинович З.И., Коваленко Т.Д. Пептид-носвязанный оксипролин и активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови женщин при ониходистрофии. *Клин. лаб. диагн.* 2009; 7: 12-4.
3. Markouch I, Clérici T, Saiag P, Mahé E. Lichen striatus with nail dystrophy in an infant *Ann Dermatol Venereol.* 2009 136(12):883-6.
4. Mayer EF, Ita F, Gonzalez E. et al. Association between onychodystrophy and human T-lymphotropic virus type 1 infection. *Int J Infect Dis.* 2013; 17(5): 312-6.
5. Корчажкина Н.Б., Круглова Л.С., Финешина В.И. Фотофорез лонгидазы в комплексном лечении ониходистрофии. *Физиотер. Бальнеол. Реабилит.* 2009; 6: 54-5.

## ИТРАКОНАЗОЛ В ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗАМИ СТОП И КИСТЕЙ

Хамидов Ф.Ш.

Андижанский государственный медицинский институт,  
Андижан, Узбекистан

Грибковые заболевания широко распространены среди населения Узбекистана, так, доля пораженности людей наиболее частым возбудителем микозов *Trichophyton rubrum* достигает 10% и более [1-3].

Последние годы фармацевтическая промышленность создала современные эффективные антимикотические средства из различных групп химических соединений после применения этих препаратов и проведение противоэпидемических мероприятий число больных микозами стоп и кистей, вызываемых только *T. rubrum*, не убывает, а увеличивается, и уступая по уровню временных трудопотерь лишь группе простудных заболеваний [4-7]. Многие исследователи причинами этого считают социальные и материальные сферы деятельности человека. Сейчас во всем мире зарегистрировано много антимикотиков, а в Российской Федерации около 100 антимикотиков в 20 формах [4, 5, 7, 8].

Многочисленные публикации свидетельствуют о многообразии средств и методов терапии самого резистентного из дерматомикозов – онихомикоза. Это локальное применение растворов, мазей, пластырей, лаков, хирургическое удаление ногтей с последующим лечением ногтевого ложа местно, а также комбинированной терапией системными антимикотиками.

Однако многие авторы указывают на отсутствие идеального метода лечения, который был бы экономически доступен и гарантировал клинико-этиологический успех излечения всех больных онихомикозами, независимо от клинической формы и вида возбудителя. Поэтому исследователи дерматологи-микологи апробируют новые оригинальные эффективные антимикотические препараты или их генериков [7, 9, 10].

В настоящее время возросла частота смешанных микобиот и поэтому при онихомикозах предпочтительнее назначать антимикотики широкого спектра действия. Отмечают высокую антимикотическую активность интраконазола практически в отношении всех возбудителей дерматомикозов, а также дрожжевых и плесневых грибов [9 – 11].

В последнее годы на фармацевтическом рынке Узбекистана появились дженерики, наиболее назначаемых и эффективных препаратов, и в частности интраконазола, который входит в состав «Румикоз»а (ОАО «Отечественные лекарства» Россия).

«Румикоз» (интраконазол) – производное триазола, активен в отношении инфекции, вызываемых дерматомицетами (*Trichophyton* spp., *Microsporium* spp., *Epidermophyton floccosum*), дрожжеподобными грибами (*Cryptococcus neoformans*, *Pityrosporum* spp., *Candida* spp., включая *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*); *Aspergillus* spp., *Histoplasma* spp., *Paracoccidioides brasiliensis*, а также другими дрожжевыми и плесневыми грибами.

Интраконазол нарушает синтез эргостерола, являющегося важным компонентом клеточной мембраны грибов, что обуславливает противогрибковый эффект препарата. При пероральном применении максимальную биодоступность интраконазола отмечают при приеме капсул сразу после плотной еды. Максимальная концентрация в плазме достигается в течение 3-4 часов после приема внутрь. Выведение из плазмы является двухфазным с конечным периодом полувыведения от 1 до 1,5 дней. Накопление препарата в кератинизированных тканях, особенно – в коже, примерно в 4 раза превышает накопление в плазме крови, а его выведение зависит от регенерации эпидермиса.

В отличие от концентрации в плазме крови, которая не поддается обнаружению уже после прекращения приема препарата, терапевтические концентрации в коже сохраняются в течение 2–4 нед после прекращения недельного курса лечения. Интраконазол обнаруживают в кератине ногтей уже через одну неделю после лечения; он сохраняется, по крайней мере, в течение 6 мес после завершения 3-месячного курса лечения. Многие авторы отмечали эффективность Румикоза при дерматомикозах, в том числе онихомикозах [5-7], также отмечали отличительные свойства этого препарата от аналогов интраконазола («Орунгала»).

В работе [7] отмечена эффективность у 28 (93,4%) больных из 30 как отличную, и только у 2 (6,6%) – хорошую. У 2-х больных они наблюдали легкие побочные эффекты в виде легкой тошноты, желудочного дискомфорта, которые без вмешательств, после отмены препарата исчезали через 1–2 сут. Отклонений от нормы лабораторных показателей не отмечали и у всех 30 больных биохимические показатели оставались в пределах нормы. Для получения достоверного клинического опыта они соблюдали принципы доказательной медицины, в частности с GCP.

**Цель исследования** – оценить эффективность, безопасность и переносимость препарата Румикоза у больных онихомикозами в условиях Ферганской долины, вызванными дерматомицетами и/или дрожжевыми и плесневыми грибами.

**Материалы и методы исследования.** Лечение Румикозом получили 51 больных с диагнозом онихомикоз стоп и/или кистей, (38 мужчин и 13 женщин, в возрасте от 32 до 56 лет), находящийся амбулаторном лечении в Андижанском областном кожно-венерологическом диспансере. Все пациенты соответствовали всем критериям включения и исключения из данного исследования. У всех больных диагноз был подтвержден микроскопически: у 8 (15,7%) пациентов выявили руброфитию стоп, у 12 (23,5%) – эпидермофитию стоп, у 19 (37,3%) – эпидермофитию стоп и кистей, у 12 (23,5%) больных отмечен кандидоз кистей. Из сопутствующих заболеваний были определены хронический гастрит у 12 человек, хронический холецистит – 8 пациента, хронический бронхит у 5 больных.

Выраженных экссудативных форм микоза стоп или осложненных вторичной инфекцией не было. Гладкой коже подошвенной и ладоней поверхностях протекал обычно с легким отрубевидным шелушением, слабо выраженным шелушением в межпальцевых складках между 3, 4 и 5 пальцами. У 12-х больных были отмечены трещины и поверхностные эрозии. У 12 больных был отмечен кандидозный онихомикоз с паронихией, утолщением и коричневым цветом ногтевых пластинок.

Проксимальное поражение ногтевых пластинок отмечено у 12 (23,5%) больных, дистальное – у 12 (23,5%), тотальное – у 27 (53%) пациентов. У 12 больных (23,5%) выявлено нормотрофическое поражение ногтевых пластинок, а у остальных 39 пациентов (76,5%) – гипертрофическая или смешанная форма поражения.

Для определения показателей безопасности и переносимости учитывали нежелательные явления, оцененные по 4-балльной шкале. Отличное: отсутствие побочных эффектов. Хорошее: легкие побочные эффекты, не требующие медицинского вмешательства. Удовлетворительное: умеренные побочные эффекты. Назначение препаратов для их устранения. Плохое: выраженные побочные эффекты, требующие отмены препарата Румикоз. Общая продолжительность наблюдения больного составляло 6 месяцев.

Схема лечения (пульс-терапия) ежедневный прием 200 мг Румикоза (по 2 капсулы) 2 раза в день в течение одной недели для лечения грибковых поражений ногтевых пластинок стоп три курса (1-я, 5-я и 9-я нед); для лечения грибковых поражений ногтевых

пластин кистей два курса Румикоза (1-я и 5-я нед). Промежуток между курсами составил 3 недели, в течение которых не нужно было принимать препарат Румикоз.

Биохимическое исследование крови (билирубин, АлАТ, АсАТ) проводили до лечения, через 1 и 3 мес после начала приема препарат Румикоз. Микроскопическое исследование пораженных ногтевых пластин проводили всем больным до лечения, через 3 и 6 мес начала терапии.

Основными клиническими критериями включения пациентов в исследование были показания к системной антимикотической терапии:

- когда ранее проведенное лечение местными средствами оказывалось неэффективными;
- поздние стадии онихомикоза (дистально-латеральная, проксимальная и тотальная); поражены более половины ногтевой пластинки;
- вовлечение в процесс матрикса; выраженное изменение ногтевой пластинки (онихолизис, гиперкератоз);
- перед включением в исследование было получено согласие каждого участника исследования.

**Результаты исследования.** Переносимость препарата Румикоз у 45 больных (88,2%) была оценена как на отлично, у 6 (11,8%) – «хорошая». Возможных серьезных побочных эффектов (тяжелые расстройства со стороны желудочно-кишечного тракта, индивидуальная непереносимость препарата и т.д.) требующих отмены препарата не наблюдались. Отклонений от нормы лабораторных показателей не отмечено, у всех 51 пациентов биохимические показатели оставались в пределах нормы.

Оценка эффективности препарата Румикоз проводили регулярно на основании осмотра, полученных данных микроскопически. Качественный состав микобиоты при микозе стоп и/или кистей подтверждали микроскопически. Клинико-этиологический эффект зависел от этиологии, степени и количества пораженных пластин. При онихомикозе ногтевых пластинок на кистях, обусловленных *Candida albicans*, после окончания первого курса пульс-терапии Румикозом, был отмечен рост здоровых ногтевых пластинок на 1,7–2,0 мм от матрикса, а к концу 6-го мес от начала курсового лечения достигнуто полное клинико-этиологическое излечение онихомикоза и разрешение явлений паронихии.

Эффективность проведенной пульс-терапии Румикозом 51 больных онихомикозом стоп и кистей была следующей: у 88 боль-

ных было отмечено клиническое и микроскопическое излечение, у одного пациента с онихомикозом стоп было назначено 4 курса пульс-терапии. Результаты исследования подтвердили ранее проведенные исследования некоторыми авторами [7].

**Вывод.** Румикоз является эффективным системным препаратом при лечении онихомикозов. Хорошо переносится больными. Высокая эффективность, отсутствие осложнений и побочных явлений при его применении позволяет рекомендовать Румикоз как препарат выбора при системной противогрибковой терапии больных.

### Список литературы

1. Дубенский В.В. Современный взгляд на проблему онихомикозов. Клинический дерматологический вестник. 2004; 3: 56-7.
2. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В., Сергеев В.Ю. Новые концепции патогенеза, диагностики и терапии онихомикозов. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2007; 3: 9-16.
3. Сергеев Ю.В., Сергеев А.Ю., Лещенко В.М. Современная программа борьбы с дерматомикозами. Усп. мед. микол. 2003; 2: 160.
4. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Онихомикозы: на пути к решению проблемы. Consilium Medicum. 2003; 5: 128.
5. Лещенко В.М. Современные антимикотики в дерматологии. Consilium medicum. 2004; 6: 196-91.
6. Лещенко В.М., Богуш П.Г., Важбин Л.Б. Новые отечественные антимикотики. Совр. микол. в России. 2002; 1: 400.
7. Скрипкин Ю.К., Лещенко В.М., Матушевская Е.В. и др. Исследование эффективности и переносимости препарата Румикоз при онихомикозах стоп и кистей. Пробл. мед. микол. 2004; 6(4): 17-20.
8. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Чему учат клинициста исследования эпидемиологии онихомикозов. Усп. мед. микол. 2003; 2: 154.
9. Лещенко В.М., Богуш П.Г., Важбин Л.Б. Орунгал в терапии грибковых заболеваний. Росс. журн. кожн. венер. бол. 2000; 3: 40-2.
10. Сергеев Ю.В., Шпигель Б.И., Сергеев А.Ю. Фармакотерапия микозов. М.: Медицина для всех. 2003. 200 с.
11. Скрипкин Ю.К., Кулагин В.И., Лещенко В.М. и др. Сравнительное изучение противогрибковой активности *in vitro* оригинального итраконазола (орунгал) и его воспроизведенных препаратов. Иммунопатол., аллергол, инфектол. 2004; 1: 60-5.

## СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОНИХОМИКОЗОВ ЧЕЛОВЕКА, ВЫДЕЛЕННЫХ В г. АСТАНЕ

Кухар Е.В.<sup>1</sup>, Киян В.С.<sup>1</sup>, Шарипова А.К.<sup>1</sup>,  
Никулина А.И.<sup>1</sup>, Шапеева Н.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахский агротехнический университет имени С. Сейфуллина,  
Астана, Казахстан

<sup>2</sup>Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева,  
Астана, Казахстан

Онихомикозы (onychomycosis, tinea unguium, ringworm of the nails) – это грибковые поражения ногтей, кистей и стоп. Среди всех заболеваний ногтей онихомикозы составляют 20–40% [1].

Согласно данным Министерства здравоохранения РК, на территории Казахстана и в г. Астана онихомикозы регистрируются постоянно, поражают людей различных профессиональных, социальных и возрастных групп. Снижение иммунной реактивности организма из-за широкого применения антибиотиков, стероидов, цитостатиков, ухудшение окружающей среды, природные и социальные катаклизмы и расширение контактов людей ведут к росту заболеваемости онихомикозами. По данным отечественных ученых, онихомикозы в Республике Казахстан поражают и новорожденных, и людей активного возраста, и престарелых. Широкое распространение получили грибковые заболевания стоп и кистей, вызываемые дерматомицетами, дрожжеподобными микроорганизмами и плесневыми грибами [2].

Антропофильный гриб *Trichophyton rubrum* (Castellani) является наиболее частым возбудителем микозов у человека, в особенности микозов стоп, кистей, гладкой кожи, ногтей. регистрируется в 80–90% случаев. На втором месте по частоте встречаемости среди дерматофитов находится *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, на долю которого приходится около 10-20% случаев дерматофитии ногтей [3].

**Цель работы** – создание коллекции классических видов дерматомицетов – возбудителей онихомикозов человека, выделенных на территории г. Астана. Работа выполнялась по бюджетной 055 программе МОН РК по теме «Молекулярно-генетическая характеристика возбудителей онихомикоза и создание коллекции микроорганизмов-продуцентов специфических антигенов» в 2012–2014 гг.

Учитывая ответственность за сохранение выделенных из патологического материала возбудителей онихомикозов, которые обладают высокой иммуногенностью и антигенностью, перспективны как штаммы-продуценты специфических антигенов или как контрольные штаммы при разработке фунгицидных препаратов, нами создана коллекция микроорганизмов – микроскопических грибов-дерматомицетов, классических возбудителей онихомикозов человека, выделенных на территории г. Астана. При создании мини-коллекции учитывали опыт национальных Коллекций микроорганизмов и пользовались классическими методиками для работы с микромицетами [4, 5].

Для первичного выделения возбудителя и получения чистой культуры дерматомицетов из патологического материала использовали агар Сабуро. Для поверхностного культивирования дерматомицетов с целью изучения морфологических и биохимических особенностей посева делали на агар Сабуро, агар Чапека, картофельный, медовый и кукурузный агары. Клинический материал предварительно выдерживали в 70% спирте в течение 20 минут. Пересев на плотные среды проводили касанием или уколом в толщу среды. Волосы человека, стерилизованные автоклавированием – для проведения теста на перфорацию волос (или для выявления кератинолитической ферментативной активности). Поверхностное культивирование дерматомицетов проводили при 28 °С в течение 20–50 сут до завершения формирования характерных колоний в чашках Петри и пробирках на скошенном агаре, на агаровых блоках по Кадену и на волосах по Ванбрейзегему.

Для выявления индивидуальной изменчивости в пределах одного штамма, характерной для дерматомицетов *Trichophyton* spp., когда в одних условиях могут образоваться резко отличающиеся друг от друга колонии, с целью идентификации проводилась микроскопия. Микроскопия полученных культур дерматомицетов, выращенных на агаровых блоках, позволяет определить наличие или отсутствие отличительных характерных морфологических признаков: нежного прозрачного ветвистого септированного мицелия, обильного спороношения или редких микроконидий и макроконидий. Микроскопию мазков проводили в нативных и окрашенных препаратах, по общепринятой методике на световом микроскопе. Вначале препарат рассматривали при малом увеличении (40×), затем при большом – (100×) и 400×. При микроскопии неокрашенных мазков гриба *T. rubrum* в 50% глицерине отчетливо просматривался тонкий (2–3 мкм), ровный, септированный мицелий, отмечалось наличие

спор. Также проводили посев на агаровые блоки по Кадену, которые просматривались под микроскопом через 24, 48 и 72 ч.

Среды Гисса с сахарозой, глюкозой, лактозой, мальтозой и маннитом использовали для определения сахаролитической активности. Среду Кристенсена с 40% мочевины – для выявления уреазной активности. Идентификацию выделенных дерматомицетов проводили с использованием соответствующих атласов и определителей [6].

Возбудители оникомикозов описывались с учетом макро- и микроморфологических признаков и биохимических особенностей. Учитывались макроскопические признаки (характеристика колоний при культивировании штаммов на агаре Сабуро при 28 °С): цвет колоний, структура поверхности колоний, характер и зональность поверхности колоний, наличие и окраска экссудата, наличие и окраска растворимого в среде пигмента (окраска субстрата), окраска обратной стороны колоний (реверзум), скорость и характер роста колоний, интенсивность спороношения колоний. Описаны микроморфологических признаков (особенности морфологии спороносных структур, спор, вегетативных структур) включало: структура поверхности оболочки, цвет, форма, размеры и характер септирования; характер роста, характер ветвления и другие признаки. Биохимические особенности: сахаролитическая и уреазная активность [7]

Начало роста колоний дерматомицета отмечали с места посева в виде равномерного радиального роста от центра агарового блока в виде лучей под стеклом и в толщу агарового блока. Внутри агарового блока мицелий прозрачный, спорообразование отсутствует. У молодых культур при посеве на агаровые блоки наблюдается начало формирования колоний, которое сопровождалось разрастанием мицелия с центра, а у старых культур обнаруживались артрспоры. Наблюдали микроконидии округлой формы, которые располагались по бокам мицелия и редкие макроконидии. Установлена характерная особенность дерматомицетов – способность образовывать артрспоры и хламидоспоры. Дерматомицеты являются грамположительными культурами, в мазках отчетливо виден мицелий, окрашенный в фиолетовый цвет, микроконидии темно-фиолетового цвета, обильные, размером до 3–5 мкм, располагаются по бокам мицелия, каплевидной формы. Макроконидии встречаются редко, имеют сигарообразную или иную форму.

В дальнейшем проводили изучение биохимических свойств: сахаролитической, ратинолитической, уреазной активности.

Всего коллекция насчитывает 10 штаммов, которые представлены в табл. 1.

Вид дерматомицета	№№ в коллекции	Биохимические свойства
<i>Trichophyton interdigitale</i>	№1	Сахаролитическая активность: глюкоза, лактоза Обладает выраженной уреазной активностью
<i>Trichophyton interdigitale</i>	№8	Активно сбраживает глюкозу менее интенсивно – глюкозу и лактозу. Выраженная уреазная активность.
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	№9	Интенсивно сбраживает сахарозу, мальтозу, менее интенсивно – глюкозу и лактозу. Выраженная уреазная активность.
<i>Trichophyton tonsurans</i>	№86	Ферментирует глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, маннит Выраженная уреазная активность.
<i>Trichophyton rubrum</i>	№144	Сахаролитическая активность: ферментирует глюкозу, сахарозу Уреазной активностью не обладает.
<i>Trichophyton rubrum</i>	№146	Сахаролитическая активность: ферментирует глюкозу, сахарозу, мальтозу Уреазной активностью обладает.
<i>Trichophyton mentagrophytes var. T. gypseum</i>	№208.2	Сахаролитическая активность: ферментирует сахарозу, мальтозу, глюкозу Выраженная уреазная активность
<i>Trichophyton rubrum</i>	№214	Сахаролитическая активность – сбраживает сахарозу, мальтозу, глюкозу и лактозу Выраженная уреазная активность.
<i>Trichophyton interdigitale</i>	№246	Сахаролитическая активность: активно сбраживает сахарозу, глюкозу, мальтозу; слабее – лактозу. Уреазной активностью не обладает
<i>Trichophyton interdigitale</i>	№327	Сахаролитическая активность – сбраживает сахарозу, глюкозу, лактозу. Выраженная уреазная активность.

Хранение микромицетов в нашей коллекции микроорганизмов осуществляется методом периодических пересевом на питательные среды. Дерматомицеты подвергаются пересевам один раз в 2–3 месяца при хранении культур в холодильнике при 4–6 °С [8].

### Список литературы

1. Сергеев А.Ю., Жарикова Н.Е., Сергеев Ю.В., Маликов В.Е. Исследование современной этиологии онихомикозов в России. Росс. журн. кожных венер. бол. 2002; 5: 42-6.
2. Байдусенова А.У. Особенности культивирования дерматомицетов *in vitro*. Пробл. мед. микол. 2008; 2(2): 25-6.
3. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. М.: БИНОМ. 2008: 480 с.
4. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Разнатовский К.И. Дерматомикозы, или поверхностные микозы кожи и её придатков – волос и ногтей. Пробл. мед. микол. 2008; 10(1): 27-34.
5. Васильева Н.В., Елинов Н.В., Богомолова Т.С. и др. Микологические культуральные исследования. Методические рекомендации. СПб. 2013: 47 с.
6. Руководство по лабораторной диагностике онихомикозов. Под ред. А.Ю. Сергеева. М. 2000: 80 с.
7. Шапекова Н.Л., Кухар Е.В., Киян В.С., Акимбаева А.К. Краткий атлас грибов рода *Trichophyton* – типичных возбудителей онихомикозов. Астана, 2014: 121 с.
8. Вазинская И.С. В сб.: Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Минск. 2009; 2: 33-47.

## НОВЫЕ МОДАЛЬНОСТИ МЕСТНОЙ ТЕРАПИИ ОНИХОМИКОЗОВ

*Морозов С.Ю.*

*ГБУ МНПЦ ДК ДЗМ, филиал «Тушинский», Москва*

Революционный прорыв в терапии дерматомикозов совершили системные антимикотики в конце 80-х гг. прошлого столетия: тербинафин, открытый в 1974 г., в клинике с 1991 г.; итраконазол, синтезированный в 1980 г., получивший международную регистрацию в 1987 г., одобренный в качестве непрерывной терапии онихомикозов с 1992 г., в качестве пульс-терапии – с 1995 г.; флуконазол – в клинике с 1988 г. и одобренный для лечения онихомикозов в 1993 г. [1, 2]

Однако параллельно экспансивности системной терапии весьма существенно увеличилась частота побочных эффектов. Так, по усреднённым данным [3], доля последних для тербинафина, итраконазола и флуконазола составляет 5–8%, 5–7% и 5–10% соответственно от общего количества экспозиций. Помимо проблем формирования своеобразной тахифилаксии, а порой и парциальной резистентности, появились методики, призванные пролонгировать персистирование терапевтических концентрации в аппарате ногтя.

К примеру А. Gupta [4] предлагает проведение booster-терапии (от англ. booster – усилитель, помощник), дополнительно к стандартному курсу системной терапии проводится – в сроки от 3 до 6 мес – дополнительный: месяц ежедневного стандартного приема тербинафина или еще 1 пульс итраконазола. Что в свою очередь опять же является фактором, способствующим отягощенности последствий системной терапии.

Понятно, что и сегодня актуальным остаётся поиск модальностей, обеспечивающих равновеликую эффективность системной терапии, но значительно уменьшающих ее морбидный потенциал или же полностью заменяющих её. Исходя из вышеприведённого, можно утверждать, что некогда пошатнувшаяся актуальность механической чистки пораженных участков н/пластин, ныне вновь на повестке дня современной дерматомикологии.

Бесспорно, самой эффективной терапевтической стратегией остаётся комбинированная [4], когда в терапии задействованы несколько модальностей одновременно: системная + местная аппликативная, системная интермиттирующая + местная механическая + местная аппликативная и т.д. Для местной терапии предложены различные модальности аппаратного ряда. Это либо (I) аппараты

механического воздействия на н/пластины, либо (II) устройства альтернативного воздействия на патоген.

(I) Аппараты механической чистки подразделяются на «сухие» и «влажные». Первые оснащены циркулярным пылесосом в рукоятки с мотором, являющейся одновременно и держателем режущего инструмента (фрезы, абразивы, шлифовщики); вторые вместо пылесоса имеют мини-штуцер для пульверизации охлаждающей жидкости, расположенный концентрически от устья штифта фрезы.

Для удаления дебриса и чистки пластин использован аппарат подоTRONIC GENIUS XP (Unitronic Electronische Steuergerate GmbH, [www.unitronic.net](http://www.unitronic.net)) с пульверизатором. Опыт работы по аппаратной чистке н/пластин диктует наличие явных преимуществ «влажных» машин перед «сухими». Они практически атравматичны, и создавались изначально для клиентов кабинетов аппаратного педикюра, имеющих нарушения тактильной и болевой чувствительности, в частности – диабетиков. Машины с пылесосом не имеют возможности охлаждения в очаге обработки и малейшее фиксирование фрезы на одном участке может привести к ожогам, чего практически невозможно получить при обработке пульверизаторным устройством.

(II) Устройства альтернативного воздействия на патоген в очаге. Речь идёт в основном о светоэмиттирующих неструктурных аппаратах, так же не требующих анестезии в процедуре. В октябре 2010 г. Управление по пищевым продуктам и лекарствам США официально разрешила к применению в лечении грибковых инфекций ногтей пульсирующий YAG (иттрий, алюминий, гранат) – лазер с  $\lambda$  в 1060 нм при частоте 33 Гц (PinPointe FootLaser, производитель Patholase) и фототоксический лазер Noveon с  $\lambda$  870 и 930 нм с низкой плотностью мощности в 1,7 Вт/см<sup>2</sup> производства Nomir Medical. По данным разработчиков [3] «уровень излечиваемости превысил таковой при топической и системной терапиях, с гораздо более низким риском, нежели при системной, но с большей стоимостью (до 1000\$ за ноготь), драматическое падение которой авторы предсказывали в связи с перспективой широкой доступности методики в будущем».

Учитывая экономический аспект подобной терапии, мы рекомендуем «бюджетную» альтернативу – разработку немецких коллег из Hahn Medical Systems под аббревиатурой РАСТ (от нем. Photo-Aktivierete Chemotherapie – фотодинамическая химиотерапия). РАСТ Med [5] – это методика фотодинамического воздействия на клетку патогена с применением специального генератора светового потока (с  $\lambda$  в 630 нм и плотностью мощности потока в 1,2 Вт/см<sup>2</sup>, размером с ладонь) и фотосенсибилизатора (геля на основе пигмента Хлорида

Толония). Методика проста: аппаратная обработка laminae externaе ногтевой пластины для обеспечения полноценной пенетрации геля в поражённую часть оной, экспозиция геля в лучах генератора в течение 9,5 мин (рекомендация производителя) и удаление геля. В ходе экспозиции лазурно-синий окрас геля обесцвечивается (показатель полноценности экспозиции).

При поражении ногтевых пластин по КИОТОС [6] до 9 можно рекомендовать «монотерапию» аппаратом (с последующей аппликативной, до отрастания здоровой пластины), при показателях от 9 до 12 – аппаратную чистку с РАСТ методикой (трёхразовую аппликацию с интервалом 2 нед между 1-й и 2-й и месячным интервалом между 2-й и 3-й), при значениях КИОТОС от 12 до 16 – комбинированную терапию с включением схем системной терапии для микозов ногтей кистей (количество аппликаций геля возрастает до 6-ти с месячными интервалами после 3-й); при индексе КИОТОС выше 16 – комбинированную терапию со схемами системной, применяемой при лечении микозов ногтей стоп.

В заключение хочется выразить убеждённость, что XXI век станет веком поиска методик местной терапии онихомикозов, полностью или частично альтернативных системной, так же, как XX ознаменовал триумф системной терапии, de facto упразднив травматизацию местной.

### Список литературы

1. Fundamental Medical Mycology. 1st ed. By E. Reiss, HJ. Shadomy, Lyon GM III. 2012 Wiley-Blackwell. 2012. John Wiley & Sons, Inc.
2. Gupta AK, Systemic antifungal agents. In: Comprehensive Dermatologic Drug Therapy. Elsevier Inc. 2nd ed. SE. Wolwerton, ed. 2007.
3. Hay RJ, Baran R, Haneke E. Fungal (Onychomycosis) and other infections involving the nail apparatus. In: Diseases of the Nails and their Management. Eds: Baran R, Dawber RPR, de Berker DAR, Haneke E, Tosti A, Malden MA. Blackwell Science. 2001.
4. Gupta AK, Linh QT, Onychomycosis therapies: Strategies to improve efficacy in dermatologic clinics. 2006; 24(3): 381-6;
6. [www.podoinstitut.ru/pages/index.php](http://www.podoinstitut.ru/pages/index.php) – РАСТ Med: Что такое РАСТ
7. Sergeev AY, Gupta AK, Sergeev YV. The scoring clinical index for onychomycosis (SCIO INDEX). Skin therapy letter. 2002: 7.

## АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОНИХОМИКОЗОВ

Рахматов А.Б., Равшанова Д.Т.

РСНПМЦ дерматологии и венерологии МЗ РУз,  
Ташкент, Узбекистан

Грибковые болезни (микозы) распространены во всех странах мира [1, 2]. Заражение микозами происходит при тесном контакте с больным человеком, через предметы обихода, при несоблюдении правил гигиены, а развитию заболевания способствуют вирулентность возбудителя, метаболический синдром, гиповитаминоз, эндокринные расстройства, иммунодефицит, гипергидроз и микро-травмы [3, 4]. В практической деятельности часто наблюдается смешанная грибковая инфекция (ассоциация дерматофитов, дрожжевых и плесневых грибов), что затрудняет диагностику и лечение данной категории больных [2].

Среди общей группы микозов, отдельное положение занимают пациенты, страдающие онихомикозами, так как грибковыми поражениями ногтей страдает около 2–13% населения [5]. При онихомикозах отсутствуют субъективные ощущения, чем обусловлена поздняя обращаемость и дальнейшее распространение грибковой инфекции в популяции.

Поражение ногтевых пластинок как на руках, так и на ногах может быть обусловлено грибами *Trichophyton*, *Achorion* и *Epidermophyton*, а также дрожжеподобными грибами рода *Candida*, [2]. Важное значение имеет и значительный рост плесневых грибов, которые могут определять клиническое течение микоза, когда может изменяться только окраска ногтевой пластинки, зависящая от разновидности плесневых грибов: от беловато-желтоватого до черного [2]. В отличие от дерматофитного онихомикоза, при плесневом – кожа стоп и межпальцевых складок в патологический процесс не вовлекается.

Учащение случаев онихомикозов за последнее десятилетие объясняется отчасти учащением микозов стоп, отчасти особым родством дерматофитов к роговым образованиям (роговому слою, кератину ногтей), отчасти своеобразными анатомическими условиями ногтей, особенно предрасположенных для заражения грибами (подногтевые щели, ногтевые бороздки и др.).

Получить достоверную информацию об этиологическом факторе онихомикоза не всегда представляется возможным, так как у 30–50% больных онихомикозами микроскопически подтвержденным диагнозом не удается выделить культуру гриба [2], хотя только

культуральный метод позволяет судить об истинной этиологии онихомикоза.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости идентификации видов возбудителей онихомикозов с целью правильного выбора противогрибкового препарата системного действия. Разработка новых методов этиологически обоснованных методов лечения онихомикозов является актуальной проблемой дерматомикологии в связи со значительным их распространением, рецидивирующим течением и недостаточной эффективностью ранее предложенных методов лечения [6].

В микологии имеется достаточное количество методов лечения онихомикозов, хотя в большинстве случаев – это длительное применение различных пластырей, лаков и нередко хирургическое удаление пораженных ногтей, причем не всегда обеспечивающих клиническое и микологическое выздоровление. Проведение этиотропной терапии является единственно эффективным подходом к лечению грибковых инфекций ногтей. Противогрибковое средство наносится непосредственно на ногтевую пластинку (наружное лечение) или препарат принимается вовнутрь (системное лечение), когда лекарство попадает в ноготь через кровь.

Недостатком местной терапии является то, что при нанесении препарата на поверхность ногтевой пластинки он не достигает возбудителя заболевания онихомикоза, располагающегося преимущественно в матриксе ногтя или ногтевом ложе. В этих случаях необходимо применение специальных кератолитических средств, а нередко и удаление самой пораженной пластинки. Все указанные мероприятия весьма трудоемки, а нередко заведомо неэффективны.

В последнее десятилетие усилиями крупных фармацевтических компаний синтезировано новое поколение антимикотических средств для системного применения, что привело к качественному перелому в подходах к терапии онихомикозов и позволило повысить эффективность лечения данного заболевания до 80-95% [7].

Для определения тактики лечения необходима правильная оценка клинической характеристики онихомикоза, так как согласно современным данным различают три основные формы заболевания: проксимальная, дистальная и поверхностная. Фундаментальными исследованиями Ю.В. Сергеева и соавт. [8] была разработана единая градация оценки клинической тяжести онихомикоза (индекс КИО-ТОС), что позволило проводить рациональную терапию системными антимикотическими средствами. Среди множества противогрибковых препаратов предпочтение следует отдавать тем средствам,

которые способны накапливаться в тех слоях кожи или ногтевых пластинках, где развивается грибковая инфекция. Таким требованиям отвечают и обладают широким спектром противогрибкового действия препараты итраконазолового и тербинафинового ряда, отличающиеся максимальной эффективностью, безопасностью и благоприятными фармакокинетическими параметрами [9].

В основе фунгистатического и фунгицидного действия этих препаратов лежит подавление синтеза эргостерола – жизненно важного компонента цитоплазматических мембран клеток гриба [10]. Указанные препараты высокоспецифичны к ферментам гриба, при этом проявляя минимальную активность в отношении аналогичных ферментов человека, что обусловлено различным строением последних в клетках грибов и млекопитающих.

В собственных исследованиях был применен препарат итраконазолового ряда (Текназол), так как последний определяется в ногте уже через 7 дней с момента начала лечения и сохраняется в течение 9-10 месяцев после прекращения лечения, что выгодно отличает его от других антимикотических средств.

Способность накопления итраконазола в ногтевых пластинках послужило поводом для разработки пульс-терапии, предусматривающей прием препарата в течение одной недели в дозе по 200мг 2 раза в день с последующим 3-недельным перерывом. Пульс-терапия позволяет в 2 раза уменьшить курсовую дозу препарата и риск развития возможных побочных явлений без снижения эффективности проводимой терапии. Следует отметить, что клиническое и микологическое выздоровление после проведенных трех курсов пульс-терапии составляет более 87% [11,12].

При проведении лечения необходимо знать сроки роста ногтевых пластинок, так как полное восстановление ногтей намного позже сроков лечения системными антимикотическими средствами. Так, ногти детей, подростков и рабочих растут быстрее, чем ногти старых людей (или лиц, не выполняющих ручную работу), ногти правой руки растут быстрее, чем левой. Известно, что ногти летом растут быстрее, чем зимой и ногти пальцев рук растут в полтора раза быстрее, чем ногти пальцев стоп [1].

За последние 15 лет в Узбекистане проведено лечение в виде пульс-терапии свыше 6000 пациентов, проживающих в различных регионах республики. За эти годы были проведены мастер-классы и обучены практически все дерматовенерологи (свыше 900 врачей) методам оценки тяжести онихомикоза, составлению стандартного протокола и оценки эффективности проведенного лечения. Со-

гласно собственным данным, клиническое и микологическое выздоровление было достигнуто в среднем у 84% пациентов. Следует указать, что для повышения эффективности антимикотической терапии в отдельных случаях были разработаны методы комплексного лечения больных онихомикозами, к примеру, с наличием таких заболеваний, как сахарный диабет, сердечно-сосудистая патология и другие.

Профилактические мероприятия при онихомикозах сводятся к тому, чтобы не допускать развитие инфекции у еще не болевших (первичная профилактика), а у болевших и получавших лечение предотвратить ее рецидив или повторное возникновение (вторичная профилактика). Соответственно, по уровню профилактических мероприятий были выделены личная (индивидуальная) профилактика, направленная на отдельных лиц и общественную, ставящую целью предотвратить распространение инфекции среди групп населения. Разновидностью общественной профилактики является профессиональная, направленная на предотвращение заболевания в отдельных предрасположенных коллективах (военнослужащие, спортсмены, рабочие отдельных отраслей промышленности, в частности, горно-металлургический комбинат).

Меры первичной профилактики включают личную гигиену, уход за ногтями, устранение или компенсация факторов риска, профилактическое использование местных антимикотиков при посещении мест общественного пользования, а также своевременное выявление и излечение микоза стоп. Первичная профилактика во многом обеспечивается санитарно-гигиеническим просвещением населения, включающим не только рекомендации о том, как избежать заражения, но и своевременное выявление и санация источников инфекции на уровне популяции [12].

Перспективным является современный вариант общественной профилактики, например, «Горячая линия», позволившая за эти годы выявить и вылечить сотни больных, страдавших онихомикозами. Указанный проект имел трехэтапную организацию: оповещение населения с помощью средств массовой информации; экспресс-консультации населения врачами-операторами «Горячей линии»; направление больных в специализированный центр дерматологии и венерологии для проведения лечения.

Выводы. Проблемы онихомикозов решаемы, так как в арсенале современной дерматомикологии существуют высокоэффективные методы лечения, позволяющие своевременно санировать не только самих пациентов, но и окружающих их лиц. Несомненным условием

лечения больных онихомикозами является индивидуальный подход, позволяющий оценивать сопутствующие факторы, устранение которых способствует повышению общей терапевтической эффективности и снижает риск возникновения возможных рецидивов заболевания.

### Список литературы

1. Сергеев А.Ю. Современные представления о патогенезе онихомикозов. Иммунопатол., аллергол. инфектол. 2000; 1: 101-10.
2. Руководство по лабораторной диагностике онихомикозов. Под ред. А.Ю. Сергеева. М. 2000: 160 с.
3. Корсунская И.М., Дворянкова Е.В. Онихомикозы и распространенный микоз гладкой кожи у соматически отягощенных пациентов. Русс. мед. журн.; 2006; 14(3): 372-4.
4. Сундукова И.О., Курицын В.П. Лечение онихомикоза у больных с сосудистой патологией. Росс. журн. кож. вен. бол. 2001; 1: 64-5.
5. Pierard G. Onychomycosis and other superficial fungal infections of the foot in the elderly: a pan-European survey. Dermatology. 2001; 202(3): 220-4.
6. Шеклаков Н.Д. Болезни ногтей. М.: Медицина.1975: 216 с.
7. Сергеев А.Ю., Иванов О.Л. Вопросы фармакокинетики и эффективности системной терапии онихомикозов. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2000; 2: 88-96.
8. Сергеев А.Ю., Иванов О.Л., Сергеев Ю.В. Эффективность системной терапии онихомикозов: отдаленные результаты и рецидивы. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2001; 2: 100-6.
9. Васенова В.Ю., Бутов Ю.С., Мордовцев В.Н. Принципы терапии онихомикозов системным антимикотиком «Орунгал». Росс. журн. кож. вен. бол.1999; 1: 32-4.
10. Kortling HC, Scholmann C. The significance of itraconazole for treatment of fungal infectionof skin, nails and mucous membranes. J Dtsch Dermatol Ges.2009; 7(1):11-9.
11. Baran R, Hay RJ, Garduno JL. Review of antifungal therapy and the severity index for assessing onychomycosis: Part I. J Dermatol Treat. 2008; 19(2): 72-81.
12. Сергеев А.Ю. Грибковые заболевания ногтей. 2-е изд. М. 2007: 164 с.

## ОЦЕНКА ПАЦИЕНТАМИ ИСТОЧНИКА ИНФИЦИРОВАНИЯ ПРИ МИКОЗАХ КОЖИ И НОГТЕЙ

Шнайдер Е.А.<sup>1</sup>, Пахомова В.В.<sup>2</sup>, Солдатов Т.А.<sup>2</sup>,  
Креницына Ю.М.<sup>1</sup>, Сергеева И.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет

<sup>2</sup>Новосибирский областной кожно-венерологический диспансер

Цель исследования – определить факторы, которые, по мнению пациентов, оказали влияние на инфицирование грибами кожи и ногтей.

**Материалы и методы.** На базе Новосибирского областного кожно-венерологического диспансера проводили клинический осмотр и анкетирование пациентов с микозами кожи и онихомикозом. Анкета состояла из 30 пунктов, заполнялась методом опроса. Было обследовано 48 человек, из них 25 (52%) женщин, 23 (48%) мужчин. Возраст пациентов составлял от 25 до 79 лет. Диагноз устанавливали на основании клинической картины заболевания и данных микроскопии. Давность заболевания составляла от 1 мес до 25 лет. Больных микозом стоп с онихомикозом стоп было 39 (81%), больных микозом стоп без поражения ногтей – 4 (8%), больных микозами гладкой кожи – 5 (11%).

**Результаты.** Причины обращения к врачу были представлены: заболевания микозами и онихомикозами у 25 (52%) пациентов, другие кожные заболевания 18 (37%) пациентов, профилактические осмотры 5 (11%) пациентов. Причиной начала заболевания пациенты считали: ношение чужой обуви 13 (27%), ни с чем не связывали развитие микоза 11 (23%) человек, заражение в общественных местах 8 (16%), заражение от членов семьи 6 (12%), ношение тесной обуви 5 (10%), сопутствующие заболевания 3 (7%), травмы 2 (5%). Вредные профессиональные факторы (контакт с химическими веществами, физические факторы) отмечали у 8 (16%) человек. Сопутствующие заболевания отмечали у 26 (54%) больных (сахарный диабет, варикозная болезнь нижних конечностей, гипертоническая болезнь, ИБС).

**Выводы.** У 37% пациентов микозы стоп и онихомикозы выявлены при обращении по поводу другого заболевания и 11% на профилактических осмотрах. 27% пациентов считают источником заражения чужую обувь, 23% пациентов не связывают заражение с каким-либо фактором.

## К ВОПРОСУ О СОВМЕСТИМОСТИ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЕВРОПЕЙСКОЙ КЛАССИФИКАЦИЙ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ОНИХОМИКОЗА

*Яковлев А.Б.*

*Учебно-научный медицинский центр Управления делами  
Президента РФ, Москва*

Проводя статистические и клинические исследования характера течения и эффективности терапии онихомикозов, в настоящее время большинство авторов пользуются преимущественно западноевропейской классификацией клинических форм онихомикоза [1, 2, 3]. Эта классификация основана на учете площади поражения ногтя, различая дистальную, латеральную и тотальную формы. Этом совершенно упускается из виду основной индекс, который влияет на выбор метода лечения в большей степени, чем площадь поражения. Это – степень гипертрофии (или отсутствие таковой), на учете которой основана классификация А.М. Ариевича [4].

Между тем, оба показателя очень органично могли бы дополнять в классификации тяжести онихомикоза. Они были учтены в Клиническом индексе тяжести онихомикоза Сергеевых (КИОТОС) [5, 6].

Несмотря на это, многие исследователи в своих работах пользуются только западноевропейской терминологией, лишая, таким образом, собственную работу убедительности.

**Цель работы** – показать полную совместимость западноевропейской классификации онихомикоза и классической отечественной по А.М. Ариевичу.

**Материалы и методы.** Проведен анализ амбулаторных карт и историй болезни 530 больных (210 мужчин и 320 женщин), в разные годы получавших лечение под нашим наблюдением. Всем пациентам диагноз был подтвержден обнаружением гриба методом КОН, в 125 случаях получен достоверный результат посева.

Онихомикоз бывает представлен следующими типами поражений, которые являются также и стадиями процесса.

1. Краевое поражение (КП) – самая ранняя стадия микоза при экзогенном заражении, когда имеются едва заметные поражения ногтей в области свободного края в виде узких желто-серых полосок и отдельных узур. Критерием диагноза КП является возможность его удаления путем простой подрезки. Однако стадия КП при онихомикозе очень часто просматривается, пропускается большим,

а иногда и врачом – не микологом. В нашем исследовании такие поражения встречались в 80 случаях из 530 (15%). Почти все эти пациенты были женщинами, поскольку женщины чаще и быстрее обращаются к микологу, едва заметив изменение ногтей.

2. Нормотрофический тип (НТТ) – представляется в виде полос и «секторов» поражения ногтевых пластинок без их утолщения и подногтевого гиперкератоза, с выраженной ломкостью, желто-серым цветом, иногда с онихолизисом, иногда с серозным отделяемым из-под ногтя. При поражении ногтя со свободного края следует говорить о дистальном варианте поражения, при локализации в боковых отделах ногтевой пластинки – о латеральном. Возможен и тотальный вариант НТТ онихомикоза. И, таким образом, западное представление о дистальной, латеральной и тотальной формах онихомикоза очень удачно вписывается в классификацию А.М. Ариевича. В нашем исследовании поражения НТТ встречались в 390 случаях из 530 (73,6%), часто комбинируясь с ГТТ.

3. Гипертрофический тип (ГТТ) – возникает при длительном существовании не леченного или плохо леченного онихомикоза; гипертрофируется в начале не сама ногтевая пластинка, а развивается подногтевой гиперкератоз (онихауксис, гиперкератоз ногтевого ложа); утолщение самого ногтя свидетельствует о многолетнем течении онихомикоза. В пределах этого типа поражения мы можем наблюдать варианты:

- дистальный, с локализацией гиперкератоза только под свободным краем в виде сектора с утолщением свыше 2 мм;
- латеральный, когда гиперкератоз распределяется по бокам ногтевого ложа, приводя к сильной деформации ногтевой пластинки;
- тотальный, с равномерным распределением роговых масс по всему ложу и утолщением всего ногтевого комплекса либо за счет ногтевой пластинки (встречается относительно не часто), либо за счет подногтевых роговых масс (наиболее частый вариант), либо за счет обеих структур (и тогда формируются «башенные ногти», встречается при онихомикозе давностью свыше 5 лет).

Т. обр, классификация А.М. Ариевича по степени гипертрофии удачно дополняет западную классификацию по площади [4, 7].

В нашем исследовании поражения ГТТ встречались в 180 случаях из 530 (34%).

4. Онихолитический тип без атрофии (истончение ногтя и слоев ногтевого ложа) – отставание ногтя от ложа, встречается при кан-

дидозной (чаще на кистях) и псевдомонадной онихиях, травматическом онихолизисе [4]. В нашем исследовании такие поражения встречались в 34 случаях из 530 (6,4%): на кистях в 22 случаях, на стопах – в 12.

5. Белая поверхностная форма (БПФ) с ее проксимальным, дистальным и смешанным вариантами является свидетельством быстрого прогрессирования онихомикоза; она может появиться и после относительно успешного лечения онихомикоза системными препаратами, когда эффект в целом был получен, но курсовая доза антимикотика оказалась недостаточной [9]. БПФ встречается при поражении ногтей грибами *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, недерматомицетными плесенями *Fusarium*, *Acremonium* [7, 8]. В нашем исследовании БПФ встречалась в 80 случаях из 530 (15%): в 40 случаях имело место начало заболевания с формирования БПФ, в 22 случаях был зафиксирован неуспех лечения, в 18 случаях – микроскопия КОН зафиксировала наличие гриба, но в посеве рост получен не был.

6. Проксимальный и проксимально-деформирующий тип поражения ногтя, который часто наблюдается при кандидозной онихии [6]: это поражение характеризуется волнообразной деформацией ногтевой пластинки, иногда по типу «стиральной доски»; при этом цвет ногтя на ранних стадиях почти не меняется. В нашем исследовании такие поражения встречались исключительно на кистях, в 35 случаях из 530 (6,6%).

7. Атрофический тип поражения ногтя по А.М. Ариевичу [4]...

По-видимому, этот тип следует разделить на два подтипа:

- вторично-атрофический тип, возникающий в результате частых и длительных механических чисток ногтя (то есть, как следствие желания больного избавиться от гриба), повторных удалений и т.п. В таких случаях ногтевая пластинка начинает расти истонченной, деформированной; наблюдаются часто койлонихия, гапалонихия, онихорексис, онихошизис. Но такая ониходистрофия в большинстве случаев является постмикотической, на фоне удачной элиминации гриба. В нашем исследовании эти поражения встречались в 18 случаях из 530 (3,4%).
- первично-атрофический тип, вызываемый непосредственно возбудителем, по нашему мнению, встречается редко. В нашем исследовании такие поражения не встречались. Иногда истончение ногтевой пластинки наблюдается при гипертрофическом поражении на фоне выраженного подногтевого гиперкератоза, но такое поражение все равно относится к ГТТ.

**Выводы:**

- 1) количество типов (и подтипов) поражения ногтей при микозе несколько больше, чем считалось до сих пор;
- 2) в пределах нормотрофического и гипертрофического типов следует различать дистальный, латеральный и тотальный варианты, что хорошо соотносится и с западноевропейской классификацией, и с отечественной по А.М. Ариевичу;
- 3) в пределах белой поверхностной формы также можно различать дистальный, латеральный и тотальный варианты;
- 4) проксимальный (проксимально-деформирующий) тип онихомикоза практически не бывает гипертрофический, а идет в сторону онихомадезиса;
- 5) в большинстве случаев онихолизис не сопровождается истончением (атрофией) ногтевой пластинки;
- 6) вторично-атрофический тип представляет собой ониходистрофию артифициального или ятрогенного характера.

**Список литературы**

1. Цыкин А.А. Онихомикозы: современное состояние проблемы. . Consilium Medicum. Дерматология 2013;1: 9-12.
2. Ломоносов К.М., Игнатьев Д.В. Микозы стоп в практике врача-дерматолога. Consilium Medicum. Дерматология. 2009; 1: 25-31.
3. Кубанов А.А., Фриго Н.В. Результаты многоцентрового скринингового исследования этиологической структуры возбудителей онихомикоза в Российской Федерации. Вестн. дерматол. венерол. 2007; 4: 6 – 11.
4. Ариевич А.М., Шецирули Л.Т. Патология ногтей. Тбилиси, 1976. 295 с.
5. Адаскевич В.П. Диагностические индексы в дерматологии. М.: Изд-во Панфилова; БИНОМ. 2014: 216 – 26.
6. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. М: Бином. 2008: 480 с.
7. Gupta AK, Jain HC, Lynde CW et all. Prevalence and epidemiology of unsuspected onychomycosis in patients visiting dermatologists' offices in Ontario, Canada – a multicenter survey of 2001 patients. Int J Dermatol. 1997; 36(10): 783-7.
8. Gupta AK, Ryder JE, Baran R, Summerbell RC. Non-dermatophyte onychomycosis. Dermatol Clin. 2003; 21(2): 257-68.
9. Сергеев А.Ю., Жарикова Н.Е., Сергеев Ю.В., Маликов В.Е. Исследование современной этиологии онихомикозов в России. Росс. журн. кожно. венер. бол. 2002; 5: 42-46.

## ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫМИ КУРСАМИ СОВРЕМЕННЫХ АНТИМИКОТИКОВ С УКОРОЧЕННЫМИ ИНТЕРВАЛАМИ

Яковлев А.Б.

*Учебно-научный медицинский центр Управления делами  
Президента РФ, Москва*

Проблема изыскания новых схем и подходов в терапии онихомикозов, по-видимому, никогда не потеряет своей актуальности. На сегодняшний день эффективность комбинированной терапии онихомикоза составляет (по данным разных авторов) от 65 до 85% [1, 7].

Факторами, определяющих эффективность лечения, являются [4]: (1) возраст пациента; (2) клинические тип и форма онихомикоза; (3) возбудитель онихомикоза; (4) наличие у пациента сопутствующих заболеваний сосудов конечностей; (5) давность заболевания.

В большинстве клинических испытаний первое десятилетие XXI века мы находили противопоставление и сравнение по эффективности и безопасности двух групп препаратов для системной терапии – азолов (итраконазол) и аллиламинов (тербинафин) [2, 5].

Начиная с 2008 г. в медицинской литературе начинают появляться исследования, посвященные не противопоставлению двух групп препаратов, а их комбинированию, применению одновременно или с укороченными интервалами между курсами. Естественно, в каждой такой работе оговаривается необходимость сочетанного применения двух системных антимикотиков, отсутствие противопоказаний и наличие показаний со стороны пациента, вплоть до исследования иммунного статуса, поскольку одним из относительно редких нежелательных явлений при лечении азолами является агранулоцитоз [4, 6].

С целью обеспечения приемлемой стоимости такого лечения разрабатываются схемы интермитирующей терапии и пульс-терапии тербинафином [1, 7]; при этом методики применения азолов остаются классическими [1, 7].

**Цель работы** – изучение эффективности и безопасности лечение онихомикозов стоп (и кистей) по классическим методикам, принятым в «Клинических рекомендациях» РОДВК для лечения микозов [3], но с укороченными интервалами между курсами (не более 3 мес).

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находилось 38 пациентов с онихомикозом стоп и кистей, 28 женщин и 13 мужчин, в возрасте от 39 до 74 лет, с давностью заболевания от 7 до 15 лет. Всем пациентам диагноз «Онихомикоз» был подтвержден обнаружением гриба методом КОН. Посев выполнялся в 26 случаях, рост гриба был получен в 13 случаях; выделенный гриб признан возбудителем в 9 случаях (*Trichophyton rubrum* – 4, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* – 3, *Fusarium* spp. – 2). Количество пораженных ногтей у каждого пациента составляло от 12 до 18.

Пациенты получали комбинированную терапию: системная терапия тербинафином по классической методике (по 250 мг 1 раз в сутки, 4 месяца) + наружное лечение, 17 человек.

Итраконазол по классической методике (по 400 мг в сутки, 7 дней, 21 день перерыв; 4 – 5 циклов) + наружное лечение, 21 человек.

Все пациенты прошли обязательное обследование для исключения противопоказаний к системной терапии, в соответствии с «Клиническими рекомендациями» РОДВК [3].

**Результаты исследования.** Из 38 пациентов лечение оказалось не привело к микологическому излечению у 14: у 5 после стартового курса лечения тербинафином, у 9 – после стартового курса лечения итраконазолом.

Таким пациентам через 3 месяца после дополнительного обследования назначалось повторное лечение: получавшие первым курсом тербинафин во время второго курса лечились итраконазолом, получавшие итраконазол – тербинафином (все по классической методике).

Из 14 таких пациентов успех после 2-го курса лечения был зафиксирован у 8. Оставшиеся 6 пациентов изъявили желание продолжать лечение во что бы то ни стало! И им назначался 3-й курс, опять со сменой препарата, и снова через 3 мес. После 3-го курса лечение было успешным у 5 настойчивых пациентов! Движение наблюдавшихся больных отражено в таблице (см. след стр.).

Через 2 г. наблюдений возобновление процесса на ногтях было отмечено у пациентов, получивших 1 курс лечения тербинафином – у 2 из 12, итраконазолом – у 5 из 12; у пациентов, получивших 2 курса («тербинафин – итраконазол» или «итраконазол – тербинафин») – 3 из 8 пациентов; у пациентов, получивших 3 курса («тербинафин – итраконазол – тербинафин» или «итраконазол – тербинафин – итраконазол») – возобновления процесса не отмечено у всех 6 пациентов.

Таблица

	Начальное количество пациентов	Пациенты с микологическим излечением <u>после первого курса</u>	Пациенты, изъясившие желание пройти <u>2-й курс</u> лечения	Пациенты с микологическим излечением <u>после 2-го курса</u>	Пациенты, изъясившие желание пройти <u>3-й курс</u> лечения	Пациенты с микологическим излечением <u>после 3-го курса</u>
Пациенты с излечением	38	24	14	8	6	6
Пациенты, продолжающие лечение	$38 - 24 = 14$		$14 - 8 = 6$		$6 - 6 = 0$	

### Выводы

1) на сегодняшний день наиболее рациональным представляется подход к лечению онихомикозов, основанный не на противопоставлении различных методик и препаратов, а на их комбинированном применении, с учетом возможностей пациента;

2) применение классических схем лечения онихомикозов с укороченными интервалами фактически означает возобновление химиотерапии, когда предыдущее вещество еще находится в тканях, что диктует необходимость тщательного обследования и отбора пациентов на такую методику;

3) эффективность повторных курсов системной терапии безусловно повышает общую эффективность системного лечения, доводя ее почти до 100%;

4) наиболее рациональным представляется подход всякий раз со сменой действующего вещества, по схеме «аллиламин-азол-аллиламин» или «азол-аллиламин-азол»;

5) количество последовательных курсов с укороченными интервалами должно быть не более трех, так как дальнейшее увеличение их количества представляется опасным;

6) при наличии у пациента склонности к формированию ониходистрофии (в следствии различных причин) предпочтительной является схема «азол-аллиламин-азол»;

7) эта же схема предпочтительна при онихомикозе, вызванным недерматомицетными гифомицетами;

8) во время трех месячных перерывов предпочтительно применение противогрибковых лаков;

9) общая продолжительность суперсетов «аллиламин-азол-аллиламин» или «азол-аллиламин-азол», с учетом 3-месячных перерывов, составляет от 15 до 20 мес.

### Список литературы

1. Касихина Е.И. Интермиттирующие схемы тербинафина в лечении микозов дерматофитной этиологии. Клин. дерматол и венерол. 2013; 5: 1–5.
2. Рукавишникова В.М. Микозы стоп. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: ЭликсКом, 2003: 332 с.
3. Рациональная фармакотерапия заболеваний кожи и инфекций, передаваемых половым путем. Рук. для практ. врачей; под общ. ред. А.А. Кубанова, В.И. Кисина. М.: Литтерра. 2005: 882 с.
4. Свищевская Е.В., Карпенкова С.В., Матушевская Е.В., Лещенко В.М., Скрипкина П.А., Григорьев В.С. Иммунный статус у больных рубромикозом ногтей. Росс. журн. кожн. венер. болезн. 2008; 2: 43-8.
5. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. 2-е изд. М.: БИНОМ. 2008: 480 с.
6. Юцковский А.Д. Современный подход к терапии онихомикоза. Дальнев. вестн. дерматовенер., косметол. пласт. хирур. 2013.
7. Gupta AK, Lynde CW, Konnikov N. Single-blind, randomized, prospective study of sequential itraconazole and terbinafine pulse compared with terbinafine pulse for the treatment of toenail onychomycosis. J Am Acad Dermatol 2001; 44: 485-91.



## **Глава 3**

---

# **Глубокие, фокальные и эндемические микозы**

## **Chapter 3**

---

# **Deep, focal and endemic mycoses**

## ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОДОНТОГЕННЫХ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ СИНУСИТОВ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ АСПЕРГИЛЛЕМОЙ

*Байдик О.Д.<sup>1</sup>, Сысолятин П.Г.<sup>2</sup>, Гурин А.А.<sup>1</sup>, Ильенко О.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Сибирский государственный медицинский университет, Томск*

<sup>2</sup>*Новосибирский государственный медицинский университет,  
Новосибирск*

В развитии верхнечелюстных синуситов одно из ведущих мест занимают одонтогенные причины, связанные с некачественным лечением зубов, перфорацией дна пазухи, наличием инородных тел, радикулярных кист и других патологических процессов. На долю одонтогенных форм среди воспалительных процессов верхнечелюстной пазухи приходится от 13 до 86% [1]. Как показали клинические наблюдения ряда исследователей одной из особенностей течения одонтогенных синуситов является частое присоединение в процессе развития воспалительного процесса грибковые инфекции, в частности, аспергиллёзной, которая оказывает существенное влияние на диагностику и лечения заболевания [2, 3]. Однако, к сожалению, в практической деятельности врачей, как правило, не учитывается эта особенность, что сказывается на реабилитации этой многочисленной группы больных.

**Цель исследования** – установить особенности клинического течения одонтогенных верхнечелюстных синуситов, осложненных аспергиллемами пазух

**Материал и методы.** Проведено комплексное обследование и хирургическое лечение 42 пациентов с диагнозом «хронический одонтогенный верхнечелюстной синусит, грибковое «тело» пазухи», из них у четырех больных диагностировано билатеральное формирование мицетом гайморовых синусов. Возраст больных составил от 18 до 42 лет (средний возраст – 27,42 ± 3,10 г.). Диагноз основывался на клинических, лучевых, эндоскопических и микробиологических методах исследования.

У всех пациентов с обнаруженным грибковым «телом» в верхнечелюстной пазухе определялись фрагменты пломбирочного материала. Для идентификации мицетомы проводили культуральное, микроскопическое и гистологическое исследование гриба. Во всех случаях при микроскопии грибкового «тела» было выявлено наличие септированного мицелия, делящегося под острым углом. При гистологическом исследовании мицетом: мицелий членистый,

септированный, дихотомический, делящийся под углом 40-45°, толщиной 3–5 мкм. Тем самым гифы мицелия формировали упорядоченную структуру, напоминающую цветок астры, центральная часть которого деструктурирована (резонно предположение, что это – *A. fumigatus*).

Статистическая обработка проведена с применением стандартных методов вариационной статистики. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее значение,  $m$  – ошибка среднего значения.

**Результаты исследования.** Исследование показало, что у 11 больных (26,19 %) грибковое поражение пазух протекало бессимптомно. Обнаружение мицетомы явилось «случайной» находкой в лечебных учреждениях по поводу заболеваний зубо-челюстной системы. У остальных 31 пациента (73,81 %) отмечалось сочетание нескольких симптомов верхнечелюстного синусита: 23 человека жаловались на выделения из полости носа вязкой, резиноподобной слизи, 17 больных отмечали нарушения носового дыхания, 13 пациентов – нарушение обоняния, 6 больных – чувство дискомфорта и лицевую боль в области пораженной верхней челюсти, 8 пациентов указывали на снижение работоспособности, которое связывали с верхнечелюстным синуситом.

Из анамнеза установлено, что все пациенты с обнаруженной аспергиллемой верхнечелюстных пазух в течение нескольких лет периодической принимали антибиотики. Из 42 пациентов с аспергиллемой только 16 больным (38,09 %) антибиотики выписывались врачом-стоматологом или оториноларингологом, а остальные – 26 больных (61,90 %) принимали препараты самостоятельно без назначения врача. Средняя продолжительность приема антибиотиков составила  $17,60 \pm 1,80$  сут. Основными препаратами, которые принимали пациенты, были фторхинолоны (ципрофлоксацин, моксифлоксацин) и цефалоспорины (цефаклор, цефиксим).

### Список литературы

1. Кулаков А.А. Одонтогенный синусит верхнечелюстной пазухи. В кн. : Хирургическая стоматология и челюстнолицевая хирургия. Нац. руков. Под ред. А.А. Кулакова, Т.Г. Робустова, А.И. Неробеева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. гл. 9: 361-79
2. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. М.: Бином, 2008: 480 с.
3. Burnham R, Bridle C. Aspergillosis of the maxillary sinus secondary to a body (amalgam) in the maxillary antrum. Brit J Oral Maxillofac Surg. 2009; 47: 313–5.

## ИНВАЗИВНЫЕ МИКОЗЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Говорова Д.В., Панасюк Е.Л.

Институт эпидемиологии и инфекционных болезней имени Л. В.  
Громашевского НАМН Украины, Киев

**Актуальность.** Инфекционные осложнения у больных с циррозом печени (ЦП) и вирусными гепатитами наблюдаются в 38 – 47% случаев, среди которых особое значение имеют грибковые инфекции, наиболее часто вызываемые *Candida* spp. Инвазивные микозы (ИМ) значительно утяжеляют состояние пациентов, делают неблагоприятным прогноз болезни, и служат непосредственной причиной смерти приблизительно у 1/4 больных с ЦП [1].

**Цель исследования** – изучить частоту встречаемости и клинические особенности ИМ у пациентов с хроническим гепатитом В, С и ЦП.

**Материалы и методы.** За последние 5 лет в отделе интенсивной терапии и детоксикации на наличие ИМ было комплексно обследовано 37 пациентов (20 женщин, 17 мужчин, в возрасте от 23 до 65 лет) с диагнозами хронический гепатит В, С (ХГВ, ХГС) и цирроз печени (ЦП). ХГВ был диагностирован у 4-х, ХГС – у 7-ми, ХГВ+гепатит С – у 12 пациентов. Среди данной группы больных у 3-х степень фиброза печени определялась как F2 у 20-ти – F3 по METAVIR с начальными проявлениями портальной гипертензии.

У всех пациентов течение хронических гепатитов носило тяжелый характер, осложненный внепеченочными проявлениями, синдромом полиорганной недостаточности (СПОН), энцефалопатией, синдромом иммунного воспаления. Из 14 пациентов с ЦП у 4-х было субкомпенсированное течение гепатита В, у 10 – стадия декомпенсации гепатита С по Чайл-Пью. По этиологии у 3-х пациентов – ЦП был смешанного генеза, у 5 – в исходе ХГВ, у 6 – ХГС. Четверо пациентов с хроническим гепатитом С (F3 по METAVIR) до госпитализации в отделение получали противовирусную терапию (копегус + пегасис согласно протоколам). Семи больным (2 – ХГС, 5 - ЦП) в связи с развитием бактериальной инфекции (обострение хронического пиелонефрита, хронические obstructивные заболевания легких) еще на догоспитальном этапе назначались антибактериальные препараты широкого спектра действия и противовоспалительные средства длительностью курсов до 14 сут. В исследование включались пациенты только с ВИЧ-отрицательным статусом.

На момент госпитализации кроме стандартных обследований (общеклинических, биохимических, иммунологических, инструментальных) в соответствии с протоколами всем пациентам проводили исследование биологических сред (кровь, мокрота, моча, кал) и мазков со слизистой носа, ротоглотки на обнаружение патогенных бактерий и грибов (с помощью микроскопического и культурального исследования), с их видовой идентификацией и чувствительностью к этиотропным препаратам. Дополнительно определяли уровень общего сывороточного IgE МЕ/мл и наличие специфических IgE к грибковым антигенам (8 типов).

**Результаты исследования.** По результатам обследования ИМ, как микст-инфекция был выявлен у 29 (78,38%) пациентов (на фоне ХГВ – 2 (5,41%), ХГС-6 (16,22%), ХГВ+С – 9 (24,32%), ЦП – 12 (32,43%). На фоне основного заболевания клинические проявления ИМ носили, как правило, стертый, второстепенный характер, что наряду с недостаточной настороженностью врачей смежных специальностей способствовало их позднему диагностированию. Большинство пациентов отмечали появление стойкого субфебрилитета на уровне 37,2 – 37,4°C в течение нескольких недель, боль при глотании, жжение языка, изжогу, анорексию, стойкие боли в эпигастральной области, учащенное мочеиспускание, надсадный кашель, сухость, шелушение кожи, появление папулезных высыпаний на лице, туловище, нарушение стула со склонностью к диарее.

У преобладающего большинства пациентов (23, 62,2%) наблюдалось одномоментное поражение двух анатомических областей в таких клинических вариантах как: 19 случаев – орофарингеальный кандидоз (ОФК) + кандидоз мочеполовой системы (КМС), 1 – ОФК + кандидозная пневмония, 1 – ОФК + кандидоз ЖКТ, 1 – ОФК + кандидоз кожи, 1 – КМС + кандидоз кожи. В 6 случаях отмечено поражение ИМ 3 анатомических областей: у 2 пациентов – ОФК + кандидозная пневмония + КМС, 3 – ОФК + кандидоз ЖКТ + кандидоз кожи, 1 – ОФК + КМС + кандидоз кожи). Как было отмечено, ОФК являлся самой часто встречающейся и «явной» формой кандидоза. ОФК проявлялся в виде глоссита, ангулярного хейлита, гингивита. В одном случае была выявлена лейкоплакия, ассоциированная с кандидозом. Грибковое поражение ЖКТ было представлено в виде: эрозивно-фибринозного гастрита, энтерита, проктосигмоидита.

Кандидозная (кандидозно-бактериальная) пневмония выявлена у 3 пациентов с ЦП на фоне застойной пневмонии, хронической сердечно-сосудистой недостаточности. Всем пациентам ранее были проведены курсы антибактериальной терапии (в 2 случаях

повторные), но сохранялись длительный субфебрилитет, кашель со скудной мокротой, одышка. При повторных исследованиях мокроты (трижды) выявлена *C. albicans*, во всех случаях в ассоциациях с бактериями. Данные инструментального обследования органов грудной клетки (СКТ), не носили строго специфического характера и были представлены как явления двусторонней очаговой пневмонии, но во всех случаях отмечалось увеличение внутригрудных лимфатических узлов.

С учетом патогенеза вирусных гепатитов и анализа клиники данной группы пациентов, к особым факторам риска ИМ у пациентов с ХГ и ЦП мы отнесли наличие внепеченочных проявлений (васкулит, аллергодерматоз, ангиит, сахарный диабет и др.), стойкой нейтропении на фоне противовирусной терапии ( $<2 \cdot 10^9$  л), печеночноклеточной недостаточности с развитием синдрома длительной эндогенной интоксикации, нарушение функции ЖКТ. У пациентов с ЦП наличие отечно-асцитического синдрома более 2 нед., СПОН, бактериальных осложнений, применение гормональной и антибактериальной терапии. Риск интраабдоминального, интраторакального кандидоза особенно высокий у пациентов с ЦП, у которых имеет место грибковое поражение легких, ЖКТ и которым регулярно проводился парацентез и торакоцентез, что требует постоянного микробиологического мониторинга удаляемых жидкостей.

При идентификации выделенных дрожжеподобных культур выявлены 2 вида гриба рода *Candida*: *C. albicans* (93,1%) и *C. glabrata* (6,9%), при этом не чувствительные к флуконазолу штаммы определялись в 10,3%. Наибольший уровень резистентности к флуконазолу отмечен у *C. glabrata*. В 75,86% случаев параллельно в материале выявлялись бактерии (грибково-бактериальные ассоциации). Наиболее часто регистрировались следующие ассоциации: в мазках из ротоглотки – *C. albicans* + *St. aureus*, в мокроте *C. albicans* + *Str. pneumoniae*; в моче – *C. albicans* + *E. coli*; *C. albicans* + *Pseudomonas aeruginosa*; кале – *C. albicans* + *E. coli*; *C. albicans* + *Enterococcus* spp. Во всех случаях пролиферация *Candida* spp. в средах превышала значение  $10^4$  КОЕ/мл. У 15 пациентов дополнительно был выявлен поверхностный микоз стоп, в 10 случаях осложненный экзематизацией и наличием микидов.

Уровень общего сывороточного иммуноглобулина IgE у пациентов с ХГВ составлял в среднем  $56 \pm 5,5$  МЕ/мл, ХГС  $78 \pm 7,2$  МЕ/мл, ЦП  $89 \pm 9,1$  МЕ/мл. У пациентов с ИМ данный показатель был достоверно выше и составлял в среднем  $115 \pm 13,9$  МЕ/мл. Превышение допустимого уровня специфических IgE к *Candida* выявлено

у 15 (51,72%), грибам *Aspergillus* – у 8 (27,6%) больных. Необходимо отметить, что сенсibilизация к антигенам *Candida* наблюдалась у всех пациентов с кандидозом ЖКТ и кандидозной пневмонией.

Проблема ИМ у данной категории больных осложнялась тем, что возможности применения гепатотоксических препаратов у них ограничены. Однако, с учетом высокого риска диссеминации возбудителя, особенно у больных с ЦП, всем больным с ИМ мы назначали в комплексной терапии флуконазол (или вариконазол), доза которого подбиралась индивидуально, с учетом данных лабораторного обследования.

Это позволило в 8 (25,6%) случаях, при повторном обследовании (на 10-й день терапии) добиться эрадикации возбудителя, у 12 (41,4 %) постепенного снижения (КОЕ/мл) числа возбудителей в исследуемом материале. Позитивная динамика быстрее всего проявлялась в регрессе клинических проявлений ОФК (в среднем на 6-й день терапии). Явления энтерита, проктосигмоидита удерживались более длительно (в среднем до 10 – 14 дней). У всех пациентов с КМС на фоне терапии наблюдалась позитивная клиническая динамика, но у больных с ЦП, при постановке постоянного уретрального катетера наблюдалась периодическая кандидурия (*C. albicans* в значениях до  $10^3$  КОЕ/мл).

**Выводы.** ИМ диагностированы у 78,38% больных с ХГВ и гепатитом С, ЦП. Наиболее часто ИМ выявлялись у пациентов с ЦП и микст- гепатитами В+С. Доминируют комбинированные формы ИМ с поражением 2 и более анатомических областей. В этиологической структуре превалирует *Candida albicans* (93,1%). В связи с высокой вероятностью диссеминации возбудителей всем пациентам с ИМ, особенно на фоне ЦП, рекомендовано проводить антифунгальную терапию под контролем лабораторных показателей. Пациентам с вирусными гепатитами, ЦП из группы высокого риска целесообразно проводить профилактическую терапию, характер которой определяется индивидуально.

### Список литературы

1. Буеверов А. О. Бактериальная инфекция как осложнение цирроза печени. РМЖ. 1998; 6: 19.
2. Громова Н.И. Роль хронических вирусных гепатитов в формировании цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Иммунопатол., алергол, инфектол. 2012; 1: 37-44

## МИКОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БРОНХО- АЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

*Игнатъева С.М., Богомолова Т.С., Спиридонова В.А.,  
Михайлова Ю.В., Руднева М.В., Чилина Г.А.*

*СЗГМУ им. И.И.Мечникова,  
НИИ медицинской микологии им. П.Н.Каишкина  
Минздрава России, Санкт-Петербург*

**Актуальность.** Инвазивный аспергиллез легких (ИАЛ) – одна из причин летальных исходов у иммунокомпроментированных пациентов. Успех лечения пациентов с ИАЛ во многом зависит от ранней этиологической диагностики, для чего используют комплекс радиологических, микологических и иммунологических исследований [1, 2]. В последние годы происходит стремительное развитие новых технологий в области молекулярной диагностики аспергиллеза и идентификации его возбудителей [3].

**Цель работы** – оценка микологических и иммунологических методов исследования бронхо-альвеолярной жидкости при диагностике ИАЛ.

**Материалы и методы.** В 90 образцах бронхо-альвеолярной жидкости (БАЛ) онкогематологических больных с ИАЛ проводили микологические исследования, включающие прямую микроскопию с применением флуоресцентного реагента (калькофлюор белый) и выделение культуры при посеве на питательную среду. Идентификацию 23 изолятов *Aspergillus* spp. проводили биохимическими (Auxacolor2, RapIDYeastPlus) и молекулярными методами (ДНК-секвенирование по локусу  $\beta$ -тубулин, филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей изолятов и референтных штаммов *Aspergillus* spp.). Обнаружение галактоманнанового антигена *Aspergillus* spp. (ГМ) в БАЛ осуществляли полуколичественно с помощью иммуноферментной (ИФА) тест-системы "Platelia *Aspergillus* EIA" (Bio-Rad Laboratories) и качественно иммунохроматографическим тестом "LFD kit" (OI Medical? Ltd). При постановке ИФА подсчитывали индекс оптической плотности (ИОП) ГМ. Для положительного БАЛ ИОП должен быть  $\geq 1,0$ .

**Результаты.** При исследовании 90 БАЛ-образцов результаты

прямой микроскопии были положительными в 28% случаев, а высеиваемость культуры *Aspergillus* spp. получали у 26% образцов. Основными возбудителями ИАЛ были *A. fumigatus* (44%), *A. flavus* (31%) и *A. niger* (13%). Для некоторых изолятов, морфологический анализ которых был затруднен, установление вида было возможным только молекулярными методами. Так, были идентифицированы редко встречающиеся изоляты *A. calidoustus* (4%), *A. sydowii* (4%), *A. tubingensis* (3%) и *A. amstelodami* (1%) и выявлены 3 генотипа видового комплекса *A. niger*: *A. niger*(5%), *A. awamori* (4%) и *A.niger/ A. awamori* (4%). ГМ *Aspergillus* spp. выявляли в 76% БАЛ-образцов методами ИФА и LFD kit, если уровень ИОП ГМ был высоким (> 2,0). При ИОП <2,0 чувствительность метода ИФА была выше, чем LFD kit. Положительные результаты иммунологических тестов коррелировали с положительными результатами микроскопических и культуральных методов исследования БАЛ в 60 и 30% случаев, соответственно, и не зависели от вида возбудителя.

**Выводы.** Для успешной диагностики ИАЛ необходимо использование быстрых методов обнаружения биомаркеров инфекции, а для своевременной адекватной антимикотической терапии важна точная видовая идентификация возбудителей ИАЛ, включающая наряду с традиционными микологическими методами исследования изолятов БАЛ современные молекулярно-генетические технологии.

### Список литературы

1. Васильева Н.В., Клишко Н.Н., Цинзерлинг В.А. Диагностика и лечение инвазивных микозов: современные рекомендации. Вест. СПб МАПО. 2010. 2(4): 5-18.
2. Игнатъева С.М., Спиридонова В.А., Богомоллова Т.С. и др. Особенности определения галактоманна в сыворотке крови и бронхо-альвеолярном лаваже онкогематологических больных с инвазивным аспергиллезом. Пробл. мед. микол. 2013; 15(4): 45-51.
3. Wengenack NL, Binnicker MJ. Fungal molecular diagnostics. Clin Chest Med. 2009; 30: 391-408.

## ОСОБЕННОСТИ АССОЦИАЦИЙ ГРИБОВ С БАКТЕРИЯМИ ПРИ ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА У ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ

*Каргальцева Н.М., Борисова О.Ю., Алешкин В.А.,  
Кочеровец В.И., Пастушенков В.Л.*

*МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора, Москва  
ООО «Фарм-Трисан», Санкт-Петербург*

По данным Европейской рабочей группы по нозокомиальным инфекциям в крови, выросло число полимикробных бактериемий до 22% случаев среди всех инфекций кровотока, а также число микст-инфекций, характеризующихся бактериально-грибковыми ассоциациями в гемокультурах. В настоящее время грибковая инфекция рассматривается как потенциальная инфекция кровотока при амбулаторных и госпитальных заболеваниях. Представители рода *Candida* занимают 3-е место среди наиболее часто выделяемых возбудителей из крови.

Представлены результаты микробиологического исследования крови 853 стационарных кардиологических больных с различными диагнозами: инфекционный эндокардит, ревматизм, вторичный инфекционный эндокардит, врожденный порок сердца, миокардит и 270 амбулаторных больных с разными наиболее часто встречаемыми симптомами: лихорадка, озноб, заболевания верхних дыхательных путей, нестабильность стула и гнойнички на коже. При микроскопии 1310 мазков стационарных больных микроорганизмы были обнаружены в виде ассоциаций в 25,4% случаев. Бактериально-грибковые ассоциации выявлены в 11,1% случаев. При бактериологическом посеве крови были получены гемокультуры, которые содержали ассоциации микроорганизмов в 11,4% случаев, в том числе бактериально-грибковые составляли 1,9% случаев.

У амбулаторных пациентов при микроскопии 316 мазков с находками микроорганизмов, ассоциации были выявлены в 82,6% случаев, в том числе бактериально-грибковые составляли 80,5% случаев. При посеве крови было получено ассоциаций в 35,7% случаев, среди которых бактериально-грибковые составляли 8,3% случаев.

Выявленные бактериально-грибковые ассоциации в этиологии заболевания у стационарных и амбулаторных больных затрудняют подбор целевой антимикробной терапии.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ РОСТА КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *ASPERGILLUS NIGER*, ВЫДЕЛЕННЫХ У БОЛЬНЫХ ОТОМИКОЗАМИ

Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Паршаков В.Р.,  
Баязитова А.А.

Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии  
Роспотребнадзора, Казань

Среди большого числа видов потенциально патогенных грибов, особое внимание исследователей привлекают грибы рода *Aspergillus*, что обусловлено заметной ролью этих грибов в этиологии оппортунистических инвазивных микозов с высокой смертностью, а также их широким распространением в окружающей среде. Основным местообитанием и резервуаром *Aspergillus* spp. считается почва [1]. Споры аспергиллов постоянно присутствуют в воздухе, обладают термо- и засухоустойчивостью, имеют небольшие размеры и легко переносятся воздушными потоками.

Природные штаммы *Aspergillus*, в том числе *A. niger*, отличаются генетическим разнообразием, при этом, их вирулентность для человека зависит от многих факторов [2]. *A. niger* является одним из наиболее распространенных возбудителей отомикозов. В то же время, до сих пор неясно, обладают ли клинические изоляты гриба штаммовыми отличиями, а также особыми, отличающимися от природных штаммов, характеристиками. Среди известных факторов вирулентности *Aspergillus* spp. отмечают термотолерантность, т.е. способность роста при различных температурах (в т. ч. +37 °С), а также скорость роста.

В связи с этим представляло интерес оценить влияние температуры на скорость роста клинических штаммов *Aspergillus niger*, выделенных у больных отомикозами.

Объектами исследования являлись 8 штаммов *A. niger*, выделенных в лаборатории микологии КНИИЭМ от больных отомикозами, а также музейный штамм У-1 из коллекции Уфимского НИВС. Выделенные от больных отомикозами штаммы *A. niger* были разделены на две группы: штаммы, выделенные в монокультуре, и штаммы, выделенные из микст-биоценоза. К каждой группе были отнесены по четыре штамма. Первую группу составили штаммы 181,321, 502, 846; вторую – штаммы № 171, 344, 620 и 1115. Штаммы №171 и 502 были выделены у больных с острым течением заболевания, при этом длительность заболевания не превышала 1 мес. Остальные

штаммы выделены у больных с длительным течением заболевания (от 1 до 10 лет).

Культивирование на среде Сабуро при +37 °С показало, что все штаммы обладали способностью роста при данной температуре. В то же время, скорость роста была значительно ниже, чем при +30 °С. Следует отметить, что для штаммов каждой группы это снижение отмечалось в разной степени. Так, штаммы первой группы, а также музейный штамм, характеризовались снижением скорости роста на 30-35%. В то же время, для двух штаммов 2-й группы (№344 и 620) было отмечено более выраженное (до 43 и 83% соответственно) снижение скорости роста при увеличении температуры.

При культивировании на среде Чапека при +30°С скорость роста колоний существенно ниже, чем на среде Сабуро. При повышении температуры культивирования на среде Чапека до +37°С скорость роста большинства штаммов практически не меняется или немного повышается. Однако, для штаммов № 321 (монокультура), 620 и 1115 (микст-культура) отмечалось значительное усиление скорости роста – на 57,1, 71,4 и 42,8% соответственно. Следует отметить, что штаммы № 321 (моно) и № 620 (микст) наиболее подвержены влиянию температуры и демонстрируют как наиболее выраженное снижение скорости роста на среде Сабуро, так и усиление роста – на среде Чапека.

Таким образом, установлено, что изменение температуры культивирования влияет на скорость роста клинических штаммов *A.niger* на, причем характер этого влияния и его количественные характеристики зависят от питательной среды и особенностей штамма.

### Список литературы

1. Микология сегодня. Т. 1. Под ред. Дьякова Ю.Т., Сергеева Ю.В. М.: Нац. акад. микол. 2007: 235-66.
2. Hogan LH, Klein BS, Levitz SM. Virulence factors of medically important fungi. Clin Microb Rev. 1996; 9(4): 469-88.

## ОСОБЕННОСТИ ТОРАКАЛЬНОГО АКТИНОМИКОЗА

*Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Климко Н.Н.*

*Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии,  
НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина СЗГМУ  
им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург*

**Актуальность.** Актиномикоз – прогрессирующая инфекция, обусловленная грамположительными бактериями из семейства Actinomycetaceae. Поражение органов грудной полости возникает у 10–20% больных. Факторы риска, патогенез, клиника, диагностика и лечение торакального актиномикоза изучены недостаточно.

**Материалы и методы.** Под наблюдением в НИИ ММ в период с января 2005 по декабрь 2014 года находилось 162 пациента с различными клиническими вариантами течения висцерального актиномикоза, в возрасте от 8 до 81 года, медиана возраста (36,5÷52). Женщины – 71% ( $n = 115$ ), мужчины – 29% ( $n = 47$ ). Пациенты с торакальным актиномикозом составили 9% ( $n = 15$ ). Верификацию диагноза осуществляли с помощью гистологического исследования биопсийного материала или удаленных органов после хирургического вмешательства.

**Результаты и обсуждение.** При анализе фоновых заболеваний гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь выявили у 5 (33%) больных, хроническую обструктивную болезнь легких у 4 (26%). Достоверным фактором риска является предшествующая аспирация содержимого желудочно-кишечного тракта – 9 (60%,  $p < 0,05$ ) случаев, при этом вероятность развития заболевания высока. Наличие кариеса, зубных гранулем, абсцессов, периодонтитов, пародонтитов и других одонтогенных заболеваний отмечено у 8 (53%) пациентов. Поражение легких выявлено у 14 (93%) больных: верхней доли правого легкого у 7 (47%), нижней доли правого легкого у 5 (33%), верхней доли левого легкого у 2 (13%) пациентов. Поражение плевры имело место в 9 (60%) случаях, мягких тканей грудной клетки в 2 (13%), поражение ключицы у одного (6%), ребер у одного (6%) пациента.

Клиническая картина заболевания не имела специфических особенностей. Процесс протекал по типу гнойного бронхита (6%), плевропневмонии (60%), пневмонии (33%), остеомиелита (12%). Наиболее частой жалобой ставшей причиной обращения за медицинской помощью стал кашель – 14 (93%) больных, болевой синдром

отмечали 8 (53%) пациентов, у 3 (20%) в анамнезе есть указание на кровохарканье. Уменьшение массы тела от начала заболевания на 3 – 10 кг (медиана  $5,5 \div 4$  кг) встречалось у 9 (60%) пациентов. Показатели клинического анализа крови были в пределах нормальных значений. После поступления в НИИ ММ все пациенты получали препараты пенициллинового ряда. На 1-м этапе лечения применяли бензилпенициллин натриевую соль в дозе 10000000 – 20000000 ЕД парентерально. В дальнейшем переходили на пероральный прием синтетических пенициллинов, чаще амоксициллин в дозе 4 г в сутки. Средняя продолжительность лечения составила 1 – 12 (медиана  $6 \div 4$ ) мес. Эффективность проведенного лечения 93%.

**Выводы.** Торакальный актиномикоз составляет 9 % от общего числа всех случаев заболевания. Признаки торакального актиномикоза неспецифичны, напоминают медленно прогрессирующие опухоли, туберкулез, другие бактериальные инфекции. Верификация диагноза актиномикоза требует гистологического подтверждения. Основой консервативного лечения торакального актиномикоза является длительная  $6 \div 4$  мес терапия пенициллинами, эффективность которой составляет 93%.

## КОЛОНИЗАЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ И РАЗВИТИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ

*Крутиков С.Н., Криворутченко Ю.Л., Постникова О.Н.,  
Крутикова М.С., Логадырь Т.А.*

*Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского, Симферополь*

По данным различных авторов у 38–47% больных циррозом печени (ЦП) выявляются инфекции, которые считают причиной смерти приблизительно четверти таких больных. Примерно у 8% больных с ЦП, чаще при тяжелом декомпенсированном течении, в асцитической жидкости (АЖ) находят различные микроорганизмы. В основном их источником является микрофлора толстой кишки, проникающая в асцитическую жидкость вследствие повышенной проницаемости кишечной стенки.

Развитие инфекционных осложнений не всегда сопровождается характерной симптоматикой. Иногда единственным проявлением спонтанного бактериального перитонита (СБП), бактериемии или пневмонии является печеночная энцефалопатия, возникающая вследствие интоксикации.

**Цель исследования** – изучение частоты инфицирования АЖ и развития СБП у больных ЦП. Бактериологическое исследование и микроскопия АЖ, полученной при парацентезе, были проведены у 19 больных. СБП был диагностирован у 2 (10,5%) больных, полибактериальный ненейтрофильный асцит (ПБА) – у 15 (78,9%) и небактериальный нейтрофильный асцит (ННА) – у 2 (10,5%) больных. Изучение АЖ, плевральной жидкости и крови больных ЦП показало, что в тканях некоторых пациентов происходит развитие дрожжеподобных грибов рода *Candida*, а также плесневых грибов. Часть больных была инфицирована бактериями, в том числе актиномицетами и нокардиями. Комбинации указанных микроорганизмов были разными. У 11 из больных (57,9%) вместе с бактериями выделялись грибы.

Учитывая высокую частоту инфицирования АЖ у пациентов и литературные данные о том, что сочетание СБП с такими осложнениями ЦП, как кровотечение или гепаторенальный синдром приводит к летальному исходу в 80-100% случаев, нами дополнительно было проведено морфологическое исследование брюшины

23 больных ЦП, полученной при аутопсии. В 6 (26,1%) случаях были выявлены морфологические изменения, характерные для СБП. На серозной оболочке кишки определялись лейкоциты, фибрин, множественные геморрагии, были видны участки гнойной деструкции. В стенке кишки выявляли гиперемию сосудов, межуточный отек, геморрагическое пропитывание и выраженную лейкоцитарную инфильтрацию.

**Вывод.** Инфицирование АЖ при циррозе происходит чаще, чем развитие СБП, от которого погибло 25% больных, подвергнутых аутопсии в нашем исследовании. Выявление микста грибов и бактерий в АЖ указывает на патогенетическую роль этих микроорганизмов в прогрессировании ЦП и развитии его осложнений. Наличие бактериемии в сочетании с фунгемией свидетельствует о выраженной иммуносупрессии и высоком риске развития СБП у больных ЦП. В связи с этим при заборе асцитической жидкости необходимо проводить бактериологическое и микологическое исследование.

## МИКОЗЫ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ: ВИДОВОЙ СОСТАВ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ

Кулько А.Б.

*Московский городской НПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ*

Вследствие выраженного иммунодефицита, у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией и СПИД вероятно развитие тяжелых системных и диссеминированных форм вторичной грибковой инфекции, вызванных представителями родов *Candida*, *Cryptococcus* и другими болезнетворными грибами [1–3].

Цель данного исследования – анализ видового состава и уровней чувствительности к противогрибковым препаратам штаммов дрожжевых грибов, выделенных при диагностике микозов различной локализации у ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом в микологической лаборатории ГКУЗ МНПЦ борьбы с туберкулезом ДЗМ (2013–2014 гг.).

Для видовой идентификации штаммов дрожжевых грибов был использован комплекс общепринятых методик: хромогенные среды «CandiSelect 4», Bio-Rad и «Brilliance Candida Agar», OXOID; тест-системы для биохимических исследований «Auxacolor 2», Bio-Rad и «ELIchrom FUNGI», ELITech MICROBIO; макро- и микроморфологические признаки (микроскопия неокрашенных и окрашенных тушью препаратов) на агаризованных питательных средах; температурные границы роста (30 °С, 35 °С, 37 °С и 42 °С).

Определение чувствительности к антимикотикам [амфотерицину В, вориконазолу, итраконазолу, позаконазолу, анидулафунгину, каспофунгину, микафунгину, флуцитозину (5-фторцитозину)] штаммов дрожжевых грибов проводили методом микроразведений в бульоне со средой RPMI 1640 с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК) в мкг/мл [система «Sensititre» (колориметрический тест «YeastOne»), TREK Diagnostics Systems]. Интерпретацию результатов тестирования чувствительности *in vitro*, т.е. отнесение штамма к категориям чувствительные к препарату (S), чувствительные-дозозависимые (SDD), штаммы с промежуточной чувствительностью (I) или устойчивые (R) проводили по имеющимся пороговым значениям МПК, установленным в работах Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) [4, 5].

Дрожжевые грибы были выделены из образцов спинномозговой жидкости (СМЖ), крови, жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), мокроты и отделяемого из зева. У двух ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом дрожжевые грибы были выделены из посевов крови. В обоих случаях фунгемия (кандидемия) была обусловлена грибом *Candida glabrata*. У гемокультур *C. glabrata* была выявлена перекрестная устойчивость к флуконазолу (МПК 128 мкг/мл) и итраконазолу (МПК >16 мкг/мл), высокие значения МПК вориконазола (2 и 4 мкг/мл) и позаконазола (>8 мкг/мл). Оба штамма *C. glabrata* были чувствительны к препаратам группы эхинокандинов: к анидулафунгину с МПК 0,03 мкг/мл, каспофунгину с МПК 0,12 мкг/мл и микафунгину с МПК 0,008 и 0,015 мкг/мл.

У четырех ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом дрожжевые грибы были выделены из СМЖ. Все четыре штамма, выделенные из образцов СМЖ были идентифицированы как *Cryptococcus neoformans*. Выявлена относительно высокая активность триазольных препаратов (флуконазола с МПК от 2 до 16 мкг/мл, итраконазола с МПК от 0,03 до 0,06 мкг/мл, вориконазола с МПК от 0,015 до 0,06 мкг/мл) и амфотерицина В (с МПК от 0,25 до 1 мкг/мл) в отношении *Cryptococcus neoformans*. Штаммы *Cr. neoformans* обладали устойчивостью к эхинокандинам (См. таблицу на след стр).

При проведении лабораторной диагностики микозов органов дыхания у ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом из посевов БАЛ, мокроты и отделяемого из зева были выделены дрожжевые грибы из родов *Candida* (5 видов) и *Saccharomyces* (1 вид). Отметим, что доля штаммов главного возбудителя кандидоза *C. albicans* в пробах БАЛ, мокроты и отделяемого из зева составляла всего 35% от общего числа выделенных штаммов дрожжевых грибов. Также отметим крайне высокую долю выделенных от больных ВИЧ-инфекцией штаммов *C. glabrata* (27%), *C. tropicalis* (20%) и *C. krusei* (12%), возбудителей кандидоза с пониженной чувствительностью к препаратам группы азолов [1-3, 6, 7].

Чувствительность к антимикотикам была протестирована у 40 клинических штаммов дрожжевых грибов родов *Candida*, *Cryptococcus* и *Saccharomyces*, из них у 11 штаммов *C. albicans*, 11 – *C. glabrata*, 4 – *C. krusei*, 1 – *C. rugosa*, 8 – *C. tropicalis*, 4 – *Cryptococcus neoformans*, 1 – *Saccharomyces cerevisiae*. Обобщенные результаты исследования активности противогрибковых препаратов в отношении штаммов дрожжевых грибов, выделенных от ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом, представлены в таблице.

Доля устойчивых к флуконазолу штаммов возбудителей кандидоза составляла: у *C. albicans* – 18,2% ( $R \geq 8$  мкг/мл), у *C. glabrata* – 18,2% ( $R \geq 64$  мкг/мл), у *C. tropicalis* – 25% ( $R \geq 8$  мкг/мл), штаммы *C. krusei* обозначаются как устойчивые к флуконазолу без интерпретации значения МПК [5].

Доля устойчивых к итраконазолу штаммов возбудителей кандидоза составляла: у *C. glabrata* – 36,4% ( $R \geq 1$  мкг/мл), у *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ( $R \geq 1$  мкг/мл) – не выявлены.

Наиболее высокую активность против протестированных клинических штаммов грибов *Candida*, *Cryptococcus* и *Saccharomyces* среди азольных препаратов проявлял вориконазол.

Отметим высокий уровень активности анидулафунгина, каспофунгина и микафунгина в отношении штаммов *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. rugosa* и *C. tropicalis*, что предполагает использование эхинокандинов для эмпирической терапии системных и диссеминированных форм кандидоза у ВИЧ-инфицированных пациентов фтизиатрической клиники.

### Список литературы

1. Атлас грибковых заболеваний. Под ред. К.А. Кауфман, Д.Л. Манделла (Kauffmann C.A., Mandell G.L.). Пер. с англ. под ред. Ю.В. Сергеева. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2010: 240 с.
2. Диагностика и лечение микозов. Под ред. Д. Р. Хоспентала, М. Дж. Риналди (D.R. Hospelthal, M.G. Rinaldi). Пер. с англ. под ред. Ю.В.Сергеева. – М.: ГЭОТАР-Медиа. 2013: 448 с.
3. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. – М.: Изд-во Бином. 2008: 480 с.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Third Informational Supplement. CLSI document M27-S3. CLSI: Wayne, PA., 2008.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. CLSI: Wayne, PA., 2012: 30 p.
6. Кулько А.Б. Чувствительность к противогрибковым препаратам клинических штаммов грибов рода *Candida*, выделенных от больных туберкулезом легких. Туберкулез и социально значимые заболева. 2013. № 2: 35-8.
7. Hoog de GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. Electronic Version 3.1 – CBS: Reus, 2011.

Диапазоны минимальных подавляющих концентраций противогрибковых препаратов  
для штаммов дрожжевых грибов (мкг/мл)

Вид n	Противогрибковый препарат, диапазон МПК в мкг/мл									
	FZ	IZ	VOR	PZ	AND	CAS	MF	AB	5-FC	
<i>Candida albicans</i> 11	0,25-128	0,03-0,25	0,008-0,25	0,008-0,12	0,03-0,12	0,03-0,06	0,008-0,03	0,12-0,5	0,03-0,12	
<i>Candida glabrata</i> 11	8-128	0,5->16	0,25-4	1->8	0,015-0,03	0,06-0,12	0,008-0,015	0,25-0,5	0,03	
<i>Candida krusei</i> 4	32-64	0,12-0,25	0,06-0,25	0,12-0,25	0,03	0,06-0,25	0,12	0,12-0,5	2-8	
<i>Candida rugosa</i> 1	8	0,12	0,06	1	0,06	0,06	0,03	0,5	0,06	
<i>Candida tropicalis</i> 8	1-32	0,03-0,5	0,015-0,5	0,015-1	0,03-0,12	0,015-0,12	0,015-0,03	0,25-0,5	0,03->64	
<i>Styriboosus neofornians</i> 4	2-16	0,03-0,06	0,015-0,06	0,03-0,25	>8	16	>8	0,25-1	2-8	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1	8	0,25	0,06	0,5	0,12	0,25	0,06	0,5	≤0,06	

Примечание: n – число протестированных штаммов; FZ – флуконазол, IZ – итраконазол, VOR – вориконазол, PZ – позаконазол, AND – анидулафунгин, CAS – каспифунгин, MF – микафунгин, AB – амфотерицин В, 5-FC – флуцитозин.

## ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКИ И ЛЕЧЕНИЯ КАНДИДОЗНОГО ЛАРИНГИТА

Кунельская В.Я., Романенко С.Г., Шадрин Г.Б.,  
Красникова Д.И., Андреевская О.А.

НИКИ оториноларингологии им. Л.И. Свержевского ДЗМ, Москва

В последнее время возрастает количество больных с грибковыми заболеваниями гортани, но в отечественной и зарубежной литературе недостаточно работ, освещающих данную проблему.

С целью определения распространенности ларингомикоза в структуре хронических воспалительных заболеваний гортани, а так же оценки клинично-функционального состояния гортани у больных с данной патологией, нами было обследовано 280 больных. Ларингомикоз был диагностирован и лабораторно подтвержден у 91 больного (33% случаев). Возбудителями ларингомикоза в 98% (89 больных) явились дрожжеподобные грибы рода *Candida*, тогда как плесневые грибы рода *Aspergillus* выделены лишь у 2 больных (3%).

Всем больным проводилась комплексная оценка клинично-функционального состояния гортани с помощью эндоскопической и микроскопической техники, клинично-лабораторное обследование, микробиологическое и микологическое обследование (в том числе, люминесцентная микроскопия), а так же гистологическое исследование при гиперпластической форме ларингита для исключения рака гортани. Основным критерием постановки диагноза ларингомикоз являлось лабораторное подтверждение: титр выделенных грибов не менее  $1,0 \cdot 10^4$  КОЕ и определение в мазках активно вегетирующих грибов.

Видовой состав возбудителей кандидозного ларингита был представлен в основном *Candida albicans* – 44 больных (48%), реже встречались и другие виды: *C. tropicalis* – 8 больных (9%), *C. krusei* – 6 больных (7%), *C. glabrata* – 6 больных (7%), *C. pseudotropicalis* – 3 больных (3%), и в 24% – *Candida* spp. (22 больных).

Жалобы больных с кандидозным ларингитом в основном были на охриплость, сухость и дискомфорт в горле, реже беспокоили скопление мокроты или ощущение кома в горле, кашель.

При микроларингоскопии отмечены следующие признаки кандидозного процесса в гортани: диффузная или ограниченная гиперемия слизистой оболочки, наличие белесоватых налетов или скопления густой мокроты в различных отделах гортани, иногда умеренная гипертрофия вестибулярных складок или утолщения

слизистой в межчерпаловидной области, похожее на пахидермию, диффузное утолщение голосовых складок, а также усиление сосудистого рисунка, в ряде случаев с тенденцией к извитости и образованию клубочков, иногда встречалась общая атрофия и сухость слизистой оболочки гортани с образованием сухих корочек.

Согласно микроларингоскопической картине, в зависимости от выраженности тех или иных проявлений, мы выделили 3 клинические формы кандидозного ларингита: гиперпластическую (55%), катаральную (31%) и атрофическую (14%).

Всем больным проводилась противоотечная, противовоспалительная и симптоматическая терапия по показаниям. Противогрибковую терапию препаратами системного и местного действия начинали только после лабораторного подтверждения диагноза. С учетом анатомических особенностей гортани, применение местных антимикотиков в лечении ларингомикоза ограничено, ингаляционный метод является единственным эффективным способом доставки лекарственного вещества непосредственно в очаг воспаления.

Лечение кандидозного ларингита проводили в течение 2–3 нед (в зависимости от тяжести заболевания) и продолжали еще в течение 1 нед после стихания жалоб и клинических признаков заболевания. Следует отметить, что при совместном использовании противогрибковых препаратов системного и местного действия, удавалось достичь клинического выздоровления в более ранние сроки.

За показатели выздоровления больного принимали нормализацию клинической картины, а также отрицательные результаты повторных микологических исследований. В результате проведенного лечения эрадикация микобиоты, подтверждённая повторными микологическими исследованиями, установлена у 87 больных (95%).

## РОЛЬ ГРИБКОВОЙ ФЛОРЫ В РАЗВИТИИ АДЕНОИДИТА

*Кунельская В.Я., Мачулин А.И.*

*НИКИ оториноларингологии им. Л.И. Свержевского ДЗМ, Москва*

Этиологически значимым в развитии воспаления глоточной миндалины является активация условно-патогенной флоры на фоне снижения общего или местного иммунитета. К данным факторам относится высокая нагрузка вирусными антигенами, приводящими к нарушению барьерной функции. На фоне вирусной инфекции происходит отек и инфильтрация мерцательного эпителия слизистой оболочки, что приводит к изменению целостности эпителиального барьера, способствуя изменению микробиоценоза. Возбудителем заболевания могут явиться не только бактерии, но и микромицеты. Немаловажным фактором приводящим к возникновению грибковых заболеваний является длительное применение антибактериальных препаратов, на фоне которых происходит подавление нормальной или патогенной бактериальной флоры, конкурирующей с грибами за метаболиты и участки связывания на слизистых оболочках. Нарушение защитного слоя бактерий, создает условия для адгезии и колонизации грибов на слизистых оболочках.

**Цель исследования** – определить роль грибковой флоры в развитии аденоидита.

**Объекты и методы.** Нами произведено обследование и лечение 340 детей в возрасте от 2 до 14 лет (228 мальчиков и 112 девочек) с признаками хронического аденоидита в стадии обострения. Исследование выполнено на базе НИКИО им. Л.И. Свержевского в ЛОР отделение ДГКБ №9.

Все дети проходили клиническое обследование, осмотр ЛОР – органов с применением эндоскопической техники (0-, 30-, 70-градусной оптикой). Лабораторная микробиологическая диагностика производится в двух направлениях: микроскопическое исследование патологического материала полученного из носоглотки в нативных и окрашенных препаратах, а также выполнение культуральных методов исследования – посев патологического отделяемого на жидкие и твердые питательные среды с последующим подсчетом колоний грибов и определения интенсивности роста.

**Результаты.** В результате проведенного комплексного исследования из 340 детей с хроническим аденоидитом грибковое воспаление глоточной миндалины было установлено у 64 детей (18,8%).

При выполнении эндоскопического исследования у всех детей с кандидозным аденоидитом нами установлены признаки, характерные для этого заболевания: наличие в нижних отделах глоточной миндалины беловатых, нитчатых наложений; сочетание беловатых наложений с отеком глоточной миндалины; слаженность лакун и наличие слизистого или слизисто-гнойного секрета. По степени гипертрофии глоточной миндалины превалировала III и II степень.

При анализе анамнестических данных установлены следующие особенности, характерные для кандидозного аденоидита у детей: частые ОРВИ (4 и более раз в год) – в 71,8% случаев; перенесенный в анамнезе инфекционный мононуклеоз – в 21,8%; длительно применение системной антибактериальной терапии – в 85,9% случаев

Видовой состав возбудителей грибковой инфекции был представлен *C. albicans* – у 26 (40,6%) детей, *C. tropicalis* – у 11 (17,1%), *C. famata* – у 3 (4,6%), *C. guilliermondii* – у 1 (1,5%), *C. pseudotropicalis* – у 1 (1,5%). У 22 детей (34,6%) детей были выявлены *Candida* spp. В нативных и окрашенных препаратах элементы гриба определяются как в виде бластоспор, так и в виде нитей мицелия и псевдомицелия.

Выводы: на основании наших исследований хроническое воспаление глоточной миндалины в детском возрасте в 18,8% случаев обусловлено грибковой инфекцией. Возбудителями заболевания являются различные виды *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. famata*, *C. hillermania*, *C. pseudotropicalis*), доминирует вид *C. albicans*.

Предрасполагающими факторами возникновения грибкового аденоидита у детей были инфекционные заболевания и длительное применение антибактериальных препаратов.

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МИКОЗА ЛОР-ОРГАНОВ

*Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И.,  
Красникова Д.И., Андреевкова О.А.*

*НИКИ оториноларингологии им. Л.И. Свержевского ДЗМ, Москва*

Проблема микозов ЛОР-органов остается актуальной, что определило цель настоящей работы: ознакомление врачей-оториноларингологов с современными принципами диагностики и лечения различных по локализации и характеру клинических проявлений микозов верхних дыхательных путей и уха.

Нозологические формы грибковых заболеваний ЛОР-органов: отомикоз, фарингомикоз, ларингомикоз, грибковое поражение полости носа и околоносовых пазух (ОНП). Различают поверхностные микозы, при которых поражаются кожа наружного слухового прохода или слизистая оболочка глотки, и глубокие микозы с поражением, например, ОНП, послеоперационной полости среднего уха, сопровождающиеся инвазией гриба не только в эпителий, но и подлежащие ткани.

Диагноз грибкового заболевания ЛОР-органов, как и любого инфекционного заболевания, устанавливается только на основании комплексных лабораторных микологических исследований. Выраженная клиника заболевания, похожего на грибковое поражение, как бы она ни была характерна, не является основанием для постановки окончательного диагноза микоза.

Диагностику микоза мы проводили в следующих направлениях:

1. Микроскопия патологического отделяемого.
2. Посевы патологического отделяемого на различные селективные питательные среды, родовая и видовая идентификация.
3. Определение чувствительности выделенных грибов к антимикотикам.
4. Лучевая диагностика (при поражении носа и ОНП).

Отбор проб биологического материала производили под контролем увеличивающей оптики (операционные микроскопы, эндоскопическая техника).

Анализ клинико-лабораторных исследований, проводимых в Научно-исследовательском клиническом институте оториноларингологии им. Л.И. Свержевского, показывает возрастающую значимость грибковой патологии среди общей отоларингологической заболеваемости. Так, в 2009–2014 гг. среди 7845 пациентов с

хронической воспалительной патологией ЛОР-органов, обратившихся в микологический кабинет консультативного отдела Центра, грибковое поражение установлено у 1 820 (23,2%).

По нашим данным, среди всех больных с микозом ЛОР-органов диагноз фарингомикоз установлен 819 больным (45%), отомикоз – 764 больным (42%), микоза ОНП и полости носа – у 145 больных (8%), и ларингомикоз – у 91 больного (5%).

Удельный вес отомикоза среди отитов другой этиологии достигает 23%, фарингомикоза при хроническом фарингите и тонзиллите – 26%. Грибковое поражение гортани при хроническом ларингите достигает 33%, при хроническом воспалении носа и ОНП доля грибкового процесса составляет – 7%.

Наружный грибковый отит, грибковый средний отит и грибковое поражение послеоперационной полости среднего уха встречаются, соответственно, в 69, 18 и 13% случаев наблюдения отомикоза. Основными возбудителями наружного грибкового отита являются плесневые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и дрожжеподобные грибы рода *Candida*. В отдельных случаях грибковое поражение уха могут вызывать грибы родов: *Mucor*, *Alternaria*, и др. Нами отмечено сочетанное поражение грибами *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. (17% наблюдений отомикоза).

При грибковом поражении глотки и гортани в качестве возбудителя лидируют грибы рода *Candida* (97–99% наблюдений).

При микозе полости носа и ОНП на долю плесневых грибов приходится до 78% поражений. Основной возбудитель – гриб рода *Aspergillus*, виды – *fumigatus* и *niger*, в отдельных случаях у иммунокомпromетированных больных грибковые заболевания ОНП могут вызывать грибы родов *Mucor*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Rhizomucor* и др.

В основном, все эти виды грибов относятся к группе условно-патогенных и вызывают заболевание только при определенных условиях, предрасполагающих к развитию и размножению грибов, обеспечивая их переход от сапрофитирования к реализации патогенных свойств.

Выявление факторов, способствующих развитию грибкового заболевания очень важно, так как предопределяет профилактические мероприятия и тактику лечения ЛОР-микоза. На основании наших исследований установлено, что фактором, способствующим развитию отомикоза, прежде всего, является травма кожи наружного слухового прохода. Так, отмечено, что грибковый наружный отит чаще возникает у повышено аккуратно людей, интенсивно применяющих ватные палочки и другие предметы для очистки

ушей, травмируя кожу наружного слухового прохода и, зачастую, осуществляя травматическую инвазию возбудителя.

Говоря о необходимости правильного, щадящего удаления избытка серы, следует помнить, что ее присутствие в небольшом количестве в слуховом проходе необходимо, так как она не только механически защищает кожу, но и осуществляет бактерицидную и фунгицидную функции. Длительное местное использование глюкокортикоидных препаратов, антибиотиков, антисептиков при оторее, сопровождающей гнойно-воспалительный процесс в среднем ухе, приводит к развитию отомикоза в 20% случаев.

Хирургическая санация среднего уха при отсутствии положительного эффекта от предыдущих курсов антибактериальной терапии, местного и физиотерапевтического консервативного лечения часто влечет за собой развитие грибкового поражения послеоперационной полости. Возможно, в таких случаях имеет место недиагностированный грибковый средний отит. Оперативное лечение в таком случае может быть выполнено только после отрицательных повторных микологических исследований. Отомикоз также может развиваться при работе в условиях запыленности и в барокомплексах с повышенным давлением и влажностью.

Грибковое поражение глотки и гортани часто развивается у пациентов после массивной высокодозной антибактериальной терапии, длительного системного применения в дозе, превышающей 0,3 мг/кг/сут (в пересчете на преднизолон), в течение более 3 нед, и местного использования ингаляционных форм кортикостероидов при гормональнозависимой бронхиальной астме. Пребывание в отделении реанимации и интенсивной терапии более 10 сут, сопровождающееся интубацией гортани более 5 сут, существенно увеличивает риск развития микозов. Способствует развитию микоза глотки и гортани табакокурение, использование съёмных зубных протезов и их неправильная обработка.

Микоз полости носа как самостоятельное заболевание встречается крайне редко, обычно при травматизации слизистой оболочки полости носа у ВИЧ-инфицированных. Чаще грибковым процессом поражаются верхнечелюстные пазухи, после попадания в них инородных тел (пломбировочный материал при пломбировке каналов 4–7 зубов верхней челюсти).

Таким образом, анализ проведённых нами исследований показал значительную этиологическую роль грибов при воспалительных заболеваниях в оториноларингологии.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА И РАЗРАБОТКА ВАКЦИН ПРИ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗАХ

Липницкий А.В., Половец Н.В.

Волгоградский научно-исследовательский противочумный  
институт Роспотребнадзора

Основную роль в защите против инвазивных микозов человека играют CD4<sup>+</sup>-Т-клетки [1–4]. Однако при оппортунистических микозах, наблюдаемых преимущественно у субъектов с различными формами иммуносупрессии, CD4<sup>+</sup>-Т-клетки отсутствуют или их количество весьма незначительно. Известно, что CD8<sup>+</sup>-Т-клетки не способны выживать и обеспечивать протективный ответ после заражения [5]. В то же время появились сообщения, свидетельствующие о том, что в экспериментах на мышах индуцированные грибными вакцинами эффекторные CD8<sup>+</sup>-Т-клетки, генерируемые в отсутствие CD4<sup>+</sup>-Т-клеток, могут формировать резистентность против некоторых микозов в отсутствие CD4<sup>+</sup>-Т-клеток [6]. Такие CD8<sup>+</sup>-Т-клетки памяти сохранялись без потери своих протективных функций при отсутствии CD4<sup>+</sup>-Т-клеток по меньшей мере в течение 6 мес. Кроме того, показано, что цитокины ИЛ-2, продуцируемые обычно примированными CD4<sup>+</sup>-Т-клетками и необходимыми для генерирования CD8<sup>+</sup>-Т-клеток памяти, могут образовываться антигенспецифическими CD8<sup>+</sup>-Т-клетками мышей после вакцинации против эндемических микозов [7].

Доминантный Th1-клеточный ответ, обусловленный цитокином ИЛ-12, является существенным для формирования защитного иммунитета против возбудителей эндемических и оппортунистических микозов [4]. Удаление ИЛ-12 или IFN- $\lambda$  ухудшало течение микоза у мышей [8]. Показано также, что дефектные по Th17 мыши проявляли тяжелый орофарингеальный кандидоз, тогда как у дефектных по Th1 мышей не было отмечено признаков заболевания. ИЛ-17 способствовал также защите от первичной легочной инфекции, вызванной *Pneumocystis carinii* [9], *Histoplasma capsulatum* [10] и *Aspergillus fumigatus* [11]. Обнаружено, что Th17-клетки, индуцированные вакцинами на основе живых аттенуированных мутантов, были необходимы для защиты против трех основных эндемических микозов – кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза и бластомикоза [8].

Остается малоизученным вопрос о значении гуморального ответа как показателя эффективности антигрибных вакцин. Антитела

против поверхностных антигенов некоторых оппортунистических грибов – сложных углеводов и белков могут быть полезны в иммунотерапии [2]. Однако лишь некоторые специфические клоны В-клеток продуцируют антитела, обуславливающие протективный иммунитет.

Таким образом, создание вакцин против первичных грибных патогенов и превалирующих оппортунистических грибов становится реальностью. Идентифицированы основные антигены, ответственные за формирование протективного иммунитета. Показано, что  $\beta$ -1,3 – глюканы некоторых грибов являются важными компонентами и могут быть основой для разработки «универсальной» грибной вакцины.

### Список литературы

1. Cassone A, Casadevall A. Recent progress in vaccines against fungal diseases. *Curr Opin Microbiol.* 2012; 15(4):427–33.
2. Cutler JE, Deepe GS, Klein D. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold. *Nat Rev Microbiol.* 2007; 5: 13–28.
3. Wüthrich M, Hung CY, Gern BH et al. A TCR transgenic mouse reactive with multiple systemic dimorphic fungi. *J Immunol.* 2011; 187(3): 1421–31.
4. Romani L. Immunity to fungal Infections. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11: 275–88.
5. Sun JC, Bevan MJ. Defective CD8 T cell memory following acute infection without CD4 T cell help. *Science.* 2003; 300(5617): 339–42.
6. Nanjappa SG, Heninger E, Wüthrich M et al/ Protective antifungal memory CD8+ T cells are maintained in the absence of CD4+ T cell help and cognate antigen in mice. *J Clin Invest.* 2012; 122: 987–99.
7. Williams MA, Tzwnik AJ, Bevan MJ. Interleukin-2 signals during priming are required for secondary expansion of CD8+ memory T cells. *Nature.* 2006; 441(7095): 890–3.
8. Wultrich M, Gern B, Hung CY et al. Vaccine-induced protection against 3 systemic mycoses endemic to North America requires Th17 in mice. *J Clin Invest.* 2011; 121: 554–68.
9. Rudner XL, Happel KI, Young EA, Shellito J.E. Interleukin-23 (IL-23)-IL-17 cytokine axis in murine *Pneumocystis carinii* infection. *Infect Immun.* 2007; 75(6): 3055–61.
10. Deepe GS, Jr, Gibbons RS. Interleukins 17 and 23 influence the host response to *Histoplasma capsulatum*. *J Infect Dis.* 2009; 200(1): 142–51.
11. Werner JL, Metz AE, Horn D et al. Requisite role for the dectin-1 beta-glucan receptor in pulmonary defense against *Aspergillus fumigatus*. *J Immunol.* 2009; 182(8): 4938–46.

## ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ ГРИБКОВЫХ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ РОТОГЛОТКИ У ЛИЦ С ИММУНОДЕФИЦИТАМИ

*Марковская А.А.*

*Кемеровская государственная медицинская академия МЗ РФ*

**Актуальность.** В настоящее время отмечается недостаток знаний реального состояния микробной экологии и колонизационной резистентности орофарингиальной области при оценке любого микроорганизм-ассоциированного состояния верхних дыхательных путей. Особую значимость приобретает изучение механизмов развития оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей. Развитие вторичных грибковых осложнений у ослабленных детей нередко является клинической манифестацией ранней ВИЧ-инфекции и, уже на стадии первичных проявлений, они могут приводить к летальному исходу [1, 2]. Сокращение продолжительности жизни ВИЧ-инфицированных детей, инвалидизация, снижение качества жизни, как детей, так и их родителей – все это предопределяет необходимость в разработке новых подходов в предупреждении развития осложнений или поиске возможностей для их отсроченного наступления [3].

**Цель исследования** – разработка патогенетически обоснованных методов профилактики оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей.

**Материалы и методы.** Исследование было построено по типу «случай-контроль». В опытную группу вошли 59 детей с ВИЧ-инфекцией (II – III стадия), средний возраст которых составил 2,3 – 0,2 г. Группа сравнения включала 45 ВИЧ-негативных относительно здоровых детей. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. Объектом исследования были 378 микроорганизмов, выделенных из содержимого толстой кишки детей с ВИЧ-инфекцией и 223 штамма от детей группы сравнения.

Забор материала с задней стенки глотки проводили с помощью сухих стерильных коммерческих тампонов (SARSTEDT) до утреннего туалета. Тампон помещали в жидкую среду Сабуро и доставляли в научную лабораторию кафедры микробиологии, иммунологии и вирусологии. Инкубировали 24 ч при 370 °C и 24 ч при 22–240 °C. Высев на селективные питательные среды осуществляли количественным методом Голда (приказ №535 от 22.4.1985 г. «Об унификации

микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений)»

Для выделения облигатно-анаэробных бактерий применяли анаэролаты (BBL, США) и газогенерирующие пакеты (НПО «Новое дело», Санкт-Петербург). Идентификацию бактерий и грибов осуществляли с использованием коммерческих тест систем ANAERO-TEST 23 (Lachema, Чехия), ПБДС (Нижний Новгород), STREPTO-TEST 16 (Lachema, Чехия), AUXOCOLOR (BioRad, Франция), СИБ для энтеробактерий набор № 2 (НПО «Микроген», Н.-Новгород). Проведено 886 опытов по изучению биологических свойств участников симбиотических ассоциаций. Изучение адгезивных свойств бактерий и грибов проводили по методике В.И. Брилиса с соавт. (1986). Оценку результатов опыта вели по индексу адгезивности микроорганизма (ИАМ). Липолитическую и ДНКазную активность условно-патогенных бактерий и грибов исследовали методом посева на Tryptithirit Base Agar (HiMedia) и DNA Base Agar (HiMedia). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам изучали диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2. 1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (2004). Полученные данные, обработаны с помощью методов вариационной статистики (Лакин Г.Ф., 1990).

**Результаты и обсуждение.** Анализ состава групп микроорганизмов по индексу постоянства (С) позволил установить различия спектра бактерий, входящих в состав микрофлоры ротоглотки у ВИЧ-позитивных детей по отношению к группе сравнения.

Так облигатная микрофлора у ВИЧ-негативных детей была представлена  $\alpha$ - и  $\gamma$ -гемолитическими стрептококками и нейссериями (С=77–91%) с уровнем  $10^4$  –  $10^6$  КОЕ/г, лакто- и бифидобактериями (С=90,4%) с уровнем  $10^2$  –  $10^4$  КОЕ/г. В добавочную микрофлору вошли стафилококки, коринебактерии и гемофилы (С=27–46%) с уровнем  $10^1$  –  $10^4$  КОЕ/г. К случайным видам отнесли роды *Bacillus*, *Candida*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* и семейство Enterobacteriaceae (С = 1,9-25%) с количественным уровнем в пределах  $10^1$  –  $10^2$  КОЕ/г.

У ВИЧ-позитивных детей в состав облигатной микрофлоры также вошли  $\alpha$ - и  $\gamma$ -гемолитические стрептококки и нейссерии (С = 66,0%) с уровнем  $10^4$  –  $10^8$  КОЕ/г. Однако наряду с типичными представителями в составе автохтонной микрофлоры ротоглотки обнаруживали дрожжевые грибы *Candida* (51,0%) с уровнем  $10^3$  –  $10^8$  КОЕ/г. Типичные же ее представители – лакто- и бифидобактерии отнесли к добавочной микрофлоре (С=34,0%), уровень которых был

в тех же пределах  $10^2 - 10^4$  КОЕ/г, что и в группе сравнения. Среди грибов рода *Candida* преобладали *C. albicans*, на долю которых приходилось 70,4% выделенных культур микромицетов. Добавочную микрофлору составили стафилококки гемолитические (С = 32%) с уровнем  $10^2 - 10^6$  КОЕ/г, а также энтеробактерии (С = 28,3%) количество которых достигало  $10^2 - 10^8$  КОЕ/г. Видовой состав гемолитических стафилококков был представлен в основном *S. aureus* (29,4%), *S. epidermidis* (23,5%), *S. hycus* и *S. xylosus* (по 5,9%). Среди энтеробактерий в 53% случаев выделяли *E. coli* и в 47% – *Klebsiella pneumoniae*. В состав случайной микрофлоры вошли негемолитические стафилококки (15,0%), кишечные энтерококки (9,4%), синегнойная палочка (5,7%) с количественным уровнем  $10^2 - 10^6$  КОЕ/г.

Установлено, что условно-патогенные микроорганизмы, входящие в состав облигатной и добавочной микрофлоры ВИЧ-позитивных детей, обладают более высокой экспрессией факторов вирулентности. Так, ДНКазной, липазной и гемолитической активностью среди стафилококков обладали 27,8, 80,6 и 88,9% культур соответственно. Если стафилококки были выделены от детей группы сравнения, то ДНКазной и липазной активностью обладали только 10,3 и 35,6% культур, а гемолитической – 28,6% штаммов ( $p = 0,02$ ). Среди грибов *Candida*, выделенных у детей основной группы 39,3% обладали гемолитической и 71,4% липазной активностью.

Условно-патогенные микроорганизмы облигатной и добавочной микрофлоры в 17,0% случаев выявлялись в ассоциациях из 2–3 представителей. Часто регистрировались ассоциации, в состав которых входили *C. albicans*. Было установлено, что микроорганизмы, составляющие ассоциации, как у ВИЧ-инфицированных детей, так и у относительно здоровых детей не проявляют друг к другу антагонистических взаимоотношений, более того дрожжевые грибы рода *Candida* потенцируют рост клебсиелл. Серия опытов по совместному культивированию *K. pneumoniae* и *C. albicans* показала, что в течение 2 ч количество клебсиелл после инкубирования с грибами достигает  $8 \lg$  КОЕ/г, тогда как в контроле (монокультура *Klebsiella* spp.) для достижения такого количественного уровня требуется 6 ч. При этом количественный уровень самих грибов в ассоциациях с клебсиеллами достигал  $2 \lg$  КОЕ/г только через 4 ч и затем не изменялся в течение всего времени сокультивирования.

Среди часто встречающихся штаммов *C. albicans*, *C. ciferii*, *C. dubliensis*, *C. guillirmondii*, *C. zeylanoides*, выделенных из ротоглотки ВИЧ-позитивных детей, наибольшая чувствительность отмечалась по отношению к нистатину (100%) и клотримазолу (90

– 100%). К амфотерицину В были чувствительны только *C. albicans* и *C. ciferii* (89 и 100% соответственно), к кетоконазолу и итраконазолу – *Candida albicans* (18,5 и 14,8% соответственно). Самая низкая чувствительность у всех штаммов отмечена по отношению к флюконазолу, составившая 39,3% – *C. albicans*, 50% – *C. ciferii*, по 3,7% – *C. guilliermondii*, *C. zeylanoides*, *C. dubliensis*.

### Выводы

1. У ВИЧ-положительных детей отмечается расширение спектра и значительное увеличение в составе микрофлоры ротоглотки условно-патогенных микроорганизмов с высокой экспрессией факторов вирулентности, способствующих развитию оппортунистических инфекций на фоне сниженной иммунологической реактивности.

2. Для снижения риска развития эндогенных бактериально-грибковых инфекций у ВИЧ-инфицированных детей необходимо проводить своевременную коррекцию микробиоценоза ротоглотки, включающую устранение ассоциативных микробных сообществ и нормализацию количества и функций доминантных микросимбионтов.

3. Для устранения бактериально-грибковых ассоциаций микросимбионтов у ВИЧ-положительных детей первоочередным является элиминация грибов *Candida*, что позволит снизить темпы размножения некоторых условно-патогенных энтеробактерий.

4. Для эффективного лечения кандидозной инфекции полости рта у ВИЧ-положительных детей необходимо проводить идентификацию выделенных микромицетов и определять их чувствительность к антимикотикам.

### Список литературы

1. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика / Ред. Н.П. Елинов, Н.В. Васильева, А.А. Степанова и др. СПб.: Коста, 2010: 224 с.
2. Alarcon JO, Freimanis-Hance Let all. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States. *AIDS Research and human retroviruses*. 2012; 28 (3): 2012.
3. ВИЧ-инфекция на рубеже веков: Руководство для врачей всех специальностей. Ред. В.В. Леванович, В.Н. Тимченко. СПб.: Изд-во Н-Л, 2012: 496 с.

## ГЛУБОКИЕ МИКОЗЫ ПРИ СОЧЕТАНИИ ТУБЕРКУЛЕЗА И ВИЧ-ИНФЕКЦИИ (ПО ДАННЫМ ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ)

*Михайловский А.М.<sup>1</sup>, Лепеха Л.Н.<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Оренбургский областной клинический  
противотуберкулезный диспансер*

*<sup>2</sup>Центральный научно-исследовательский институт  
туберкулеза» РАМН, Москва*

ВИЧ-инфекция в настоящее время является важной медико-социальной проблемой во всем мире. Рост заболеваемости и распространенности ВИЧ-инфекции в Российской Федерации приводит к увеличению количества больных с поздними стадиями болезни с тяжелыми вторичными поражениями [1, 2, 6]. В Оренбургской области основной причиной госпитализации и летальных исходов у больных ВИЧ-инфекцией является туберкулез [5]. Другие вторичные заболевания, включая пневмоцистоз легких (ПЛ) и криптококкоз, в области встречаются не часто. Это объясняется высокой заболеваемостью, распространенностью и смертностью от активного туберкулеза в регионе [5]. Клиническим проявлением ПЛ является пневмоцистная пневмония (ПП), которая приводит к развитию острой дыхательной недостаточности и без этиотропной терапии часто заканчивается летально [4]. При этом необходимо отличать латентный ПЛ, наблюдаемый довольно часто при различного рода иммуносупрессиях и характеризующийся нахождением отдельных трофозоидов свободно лежащих на поверхности альвеоцитов 1-го типа (А-1) [3]. Криптококкоз при иммунодефиците протекает в виде генерализованных форм [8, 9]. Тревожным фактором является выявления у ряда здоровых лиц при исследовании методом ПЦР бессимптомной колонизации пневмоцистами [7]. Наши предшествующие исследования показали, что у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции ведущей формой туберкулезного процесса является генерализованный (80%) [5]. В Оренбургской области все случаи одновременного сочетания ВИЧ-инфекции, генерализованного туберкулеза, ПП и криптококкоза были выявлены лишь посмертно.

**Цель исследования** – анализ морфологических проявлений сочетанной патологии: генерализованного туберкулеза, ПП и криптококкоза у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Наши исследования основаны на аутопсийном исследовании 6 пациентов с коинфекцией ТБ-ВИЧ и пневмоцистной пневмонией

и 3 пациентов с сочетанием ТБ, ВИЧ и генерализованного криптококкоза. Выявлено генерализация специфического воспаления во всех проведенных аутопсиях. Отмечается поражение легких, лимфатических узлов грудной полости, селезенки и почек. Поражение легких проявляется в виде мелкоочаговой диссеминации очагов казеозного некроза. Специфические очаги в других паренхиматозных органах однотипны и представляют собой очаги некроза диаметром до 0,5 см. Обращает на себя внимание «резинотодобность» легочной ткани и выраженный отек. Лимфатические узлы грудной и брюшной полости увеличены, на разрезе обнаруживаются мелкие белесоватого вида очаги.

При гистологическом исследовании выявлена слабая продуктивная клеточная реакция по периферии очагов туберкулезного воспаления, которые гистологически однотипны и повсеместно имеют вид периваскулярных гнойно-некротических фокусов. В аутопсированной легочной ткани преобладали экссудативно-альвеолярные изменения в перифокальной зоне специфического воспаления. В легочной ткани выявляются различного вида васкулиты: эндovasкулит, панваскулит, тромбоваскулит. Генерализация туберкулеза проявляется выраженной гематогенной диссеминацией с формированием во внутренних органах множественных однотипных фокусов казеозного некроза. Определяется одновременное поражение лимфатических узлов как грудной, так и брюшной полости. При их гистологическом исследовании выявляется лимфоаденопатия с обеднением лимфоидной ткани, частичной или полной редукцией фолликулов, реактивной гиперплазией гистиоцитарных элементов и ангиоматозом. Окраска очагов некроза по Циль-Нильсену выявило большое количество кислото-устойчивых микобактерий (КУМ), а посев на твердые и жидкие питательные среды дал рост МБТ с множественной лекарственной устойчивостью во всех наблюдениях.

При гистологическом исследовании ткани легких у всех больных обнаруживается картина выраженного ПЛ и перехода его в ПП. В просвете альвеол большое количество трофозоидов и прецист, определяющиеся в составе пенистой массы, которая при окраске геметоксилином и эозином выглядит эозинофильной. Прогрессирующее течение ПЛ и переход его в ПП проявлялся нахождением в альвеолах разрушенных альвеоцитов 1-го типа и характерных признаков воспаления. Большая часть альвеол заполнена гомогенным пенистым белковым эозинофильным экссудатом, содержащим целые и разрушенные пневмоциты. Альвеолярный эпителий, контактирующий с возбудителем гипертрофирован, стенки аль-

веол утолщены за счет расширенных капилляров и инфильтрации лимфо-гистиоцитарными элементами. При окраске препаратов реактивом Шиффа цисты окрашивались в розоватый цвет, а серебрение по Грокотту определяло в альвеолах цисты и спавшиеся стенки цист. В части альвеол наблюдались многоядерные клетки, типа клеток «инородных тел».

Гистологически выявлялись признаки ДВС-синдрома. Обнаруживались типичные гиалиновые мембраны, повторяющие контуры альвеол, что указывает на развитие острого респираторного дистресс-синдрома. Vegetативные формы пневмоцист прикреплялись и приводили к разрушению А-1, а в альвеолах обнаруживались так же разрушенные пневмоцисты, клеточные элементы воспаления, сгустки фибрина, фрагменты мембран сурфактанта и пенистые макрофаги. Патоморфологическое исследование больных с сочетанием ТБ, ВИЧ-инфекции и криптококкоза показало, что видимые изменения локализовались в головном мозге, легких, селезенке и почках. При исследовании головного мозга обращало на себя внимание выраженный отек и гиперемия мягкой мозговой оболочки, расширение боковых желудочков. Оба легких были маловоздушны, наблюдался выраженный отек. В ткани селезенки и обеих почек на разрезе выявлялись просовидные высыпания.

При гистологическом исследовании парафиновых срезов, окрашенных гематоксилином-эозином, выявлено большое количество *Cryptococcus neoformans* в виде дрожжевой фазы жизненного цикла гриба. В мозговых оболочках криптококки располагались периваскулярно, а так же в просвете капилляров. Отмечалось неравномерное утолщение мягкой мозговой оболочки за счет скопления возбудителей и воспалительного инфильтрата, представленного лимфоцитами, плазмócитами, единичными эпителиоидными клетками, а так же гистиоцитами и нейтрофилами. Скопление возбудителя выявлено в легочной ткани. Криптококки заполняли полости альвеол на фоне выраженного отека, умеренной воспалительной инфильтрации и отсутствия продуктивно-клеточной (гранулематозной) реакции ткани.

Скопления возбудителя выявлено также в сосудах легких. В ткани селезенки и почек на фоне периваскулярных скоплений криптококков, наблюдалась слабая продуктивная тканевая реакция в виде формирования гранулемоподобных образований и наличия многоядерных клеток типа инородных тел.

Патоморфологические исследования случаев сочетания пневмоцистной пневмонии и генерализованного криптококкоза с генера-

лизованными формами туберкулеза показало, что при снижении CD4 Т-лимфоцитов <200-150 кл/мкл у больных с ВИЧ-инфекцией возможно проявления не одной, а нескольких инфекционных патологий. В приведенных случаях именно развитие не диагностированной ПП и генерализованного криптококкоза послужило непосредственно причиной смерти пациентов в результате развития острой дыхательной недостаточности и отека головного мозга. Таким образом, наличие распространенных генерализованных форм туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией не исключает наличие других инфекционных заболеваний, которые иногда выходят на первый план в генезе смерти. Это указывает на необходимость проведения дополнительных методов исследования с целью выявления всей инфекционной патологии у пациента (морфологические, бактериологические, молекулярно-генетические методы и метода компьютерной томографии с высоким разрешением).

### Список литературы

1. Ермак Т.Н. Пневмоцистная пневмония в сочетании с туберкулезом как первые клинические проявления на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. Терапевтический архив. 2005. №11. С.21-23.
2. Ермак Т.Н. Пневмоцистная пневмония, туберкулез легких и их сочетание у больных ВИЧ-инфекцией. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2008; 3: 31-4.
3. Клеточная биология легких в норме и патологии. Рук. для врачей. Ред. В.В. Ерохина, Л.К. Романова. М: Медицина, 2000. – 496 с.
4. Лепеха Л.Н., Бархина Т.Г., Пархоменко Ю.Г. Пневмоцистоз легкого в эксперименте и клинике. Арх. патол. 1998; 5: 646-52.
5. Михайловский А.М. Особенности клинико-морфологических проявлений туберкулеза, сочетанного с ВИЧ-инфекцией в Оренбургской области. Автореф. ... канд мед. наук. М. 2011: 27 с.
6. Самитова Э.Р., Токмалаев А.К., Ермак Т.Н. Случай сочетания пневмоцистной пневмонии с диссеминированным туберкулезом легких у больного ВИЧ-инфекцией. Вест. РУДН. 2006;1: 81-3.
7. Morris A., Lundren JD, Masur H et al. Current Epidemiology of Pneumonia Emerg. Infect. Dis. 2004; 10(10): 1713-20/
8. Meyohas MC et al: Pulmonary cryptococcosis: Localized and disseminated infections in 27 patients with AIDS. Clin Infect Dis 1995; 21: 628.
9. Murakawa GJ, Kerschmann R, Berger T. Cutaneous Cryptococcus infection and AIDS: Report of 12 cases and review of the literature. Arch Dermatol 1996; 132: 545-8.

## К ВОПРОСУ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКОТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ ГЛАЗ

Новицкая И.В.<sup>1</sup>, Сомова В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

<sup>2</sup>Волгоградский государственный медицинский университет

Назначения пролонгированных антибиотиков широкого спектра действия входят в алгоритм профилактики любых послеоперационных осложнений в хирургии, травматологии, трансплантологии, офтальмологии и других разделов медицины. При этом попытки перорального применения пробиотиков в некоторой степени поддерживает микрофлору кишечника, однако не решает проблемы в целом. И, как вирусные поражения клетки способствуют интрацеллюлярному проникновению бактериальных возбудителей, так и нарушения нормального биоценоза неизбежно провоцирует присоединение микотических осложнений, которые особенно манифестируют на фоне прогрессирующего роста иммунодефицитных состояний населения.

Как известно, оппортунистические микозы являются своеобразными маркерами формирующегося иммунодефицита. При этом в офтальмопатологии традиционно используют не только антибактериальные средства, но и глюкокортикоидные капли, что закономерно при затяжных и прогрессивных формах процессов приводит к развитию микотических поражений различных тканей глаз. Однако офтальмомикозы представляют собой до настоящего времени проблему не только в плане лечебной тактики, но и непосредственно диагностики. Трудности выделения микромицетов, прежде всего, связаны с более длительной экспоненциальной фазой роста грибных клеток по сравнению с бактериальными возбудителями, которые опережают грибы при росте на питательных средах, а также определенной прихотливостью ряда микромицетов, как, например *Trichophyton* sp. Есть мнение, что лабораторное выявление грибов даже при клинически явных проявлениях микозов не превышает 30%.

За период 2011 г. по настоящее время нами проведено микологическое исследование посевов с очагов поражения (язв роговицы, конъюнктивы, внутренней поверхности слизистой век и т.д.) 127 человек при затяжных и хронических формах увеитов, конъюнк-

тивитов, блефаритов, кератитов и т.д., включая панофтальмиты.

Взятие материала осуществляли ватным тампоном, для уменьшения травматизации смоченным 0,15 М раствором хлорида натрия.

Посев осуществляли в как можно более ранние сроки [1,2] на плотные и жидкие питательные среды (агар Дифко, агар и бульон Сабуро, содержащие хлорамфеникол в концентрации 50 мкг/мл для подавления роста бактериальных контаминантов в 2-х повторностях – с целью культивирования как при температуре 37 °С, так и при температуре 28 °С. В первом случае создаются условия для преимущественного развития дрожжеподобной микобиоты и сахаромикетов, в последнем – для роста мицелиальных грибов и возбудителей дерматомикозов.

Срок наблюдения за первичными посевами составлял от 14 до 22 дней. В отдельных случаях начало роста было отмечено на 5-7 и даже 10-14 сут после посева. Как правило, рост патогенных грибных культур был обнаружен как на чашках Петри, так и в пробирках с бульоном, что являлось косвенным подтверждением выделения именно возбудителя, являющегося этиологическим фактором заболевания. При появлении роста бульонной культуры осуществляли ее дополнительный высев на плотные питательные среды. По мере формирования мицелия и органов вегетативного спороношения проводили идентификацию культур: по биохимическим критериям для дрожжеподобных возбудителей [3, 4] и по морфологическим признакам для нитчатых видов в соответствии с атласами – определителями в микропрепаратах на стекле под микроскопом при увеличении 20х и 40х [5, 6].

Зрелые культуры изучали по чувствительности к антимикотическим препаратам. Были использованы диски (НИЦФ, г. Санкт-Петербург) с такими используемыми в офтальмологии лекарственными средствами, как дифлюкан (флуконазол), орунгал (итраконазол), низорал (кетконазол), тербинафин, нистатин, амфотерицин, клотримазол, клоргексидин, мирамистин. В отдельных случаях осуществляли определение МИК препаратов в 96-луночных планшетах для иммунологических реакций (г. Санкт-Петербург) методом предельных разведений лекарственных средств после их предварительного разведения в растворе DMSO [7].

По результатам проделанной работы оказалось, что по возрасту больные распределялись следующим образом: до 7 лет – 7,1% пациентов, от 8 до 15 лет – 5,2%; от 16 до 24 лет – 14,3%, 25-44 г – 24,1%, 45–59 лет – 26,2 %, от 60 и выше – 23,1%. Заболеваемость мужчин и женщин в наших исследованиях составляла 1: 2,4. В целом, микро-

мицеты выделены в 48,82% наблюдений. Отрицательные пробы встречались, соответственно, в 51,18% случаев. При этом около 10% наблюдений составляли случаи выявления патогенных видов микроскопических грибов после пассирования их в бульонных питательных средах.

В указанных выше возрастных группах случаи лабораторного подтверждения микозов глаз из числа обследованных составили соответственно 42,8, 60, 50, 30,4, 64 и 61,9%. По-видимому, в возрастных категориях до 24 лет больные поступают для обследования на микотическую поражаемость глаз при клинически ярко выраженных случаях, позволяющих врачу четко заподозрить офтальмомикоз, в то время как достоверное снижение ( $p < 0,05$ ) этого показателя в группе 25–44 лет, возможно, может быть связано как с достаточно активным функционированием тимуса в этом возрасте и, как следствие, относительно сохранным клеточным иммунитетом, так и более эффективным на этом фоне действием противомикотических препаратов.

Больные зрелого возраста составляли около 50% всех наблюдений. При этом в возрастных категориях 45–59 лет и от 60 лет и выше патогенные виды грибов были выявлены в 64 и 61,9% случаев соответственно, что, несомненно, является свидетельством хронизации процесса у этих больных. Возможно, именно в этих случаях маркерное подтверждение микроскопическими грибами состояния иммунодефицитов является очевидным.

По видам микромицеты были распределены следующим образом: грибы *Candida* sp. составили 40,16% случаев (82,26% положительных проб). В 1-м случае (1,62% положительных результатов) отмечен рост *Rhodotorula rubra*.

Нитчатые микромицеты обнаружены в 8,66% наблюдений. По виду они были представлены *Aspergillus* sp. (*A. fumigates*, *A. niger*), *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., *Dematiaceae*.

В редких случаях (3,15%) выявлены дерматомицеты, представляющие собой облигатные патогены человека (*Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epydermophyton floccosum*). Вызываемые ими инфекции, как известно, отличаются особой тяжестью, прогрессивным течением, резистентностью к терапии.

Микст-инфекции (*Candida* sp. и *Aspergillus* sp. (*Penicillium* sp.), *Candida* sp. и *Trichophyton* sp. и т.д.) были обнаружены в 4% проб.

При определении спектра чувствительности выделенных штаммов к противогрибковым препаратам выявлено, что чувствительными к дифлюкану оказались 19,6%, орунгалу – 42,8%, низоралу

– 41,0%, нистатину – 44,6%, амфотерицину – 42,8%, тербинафину – 73,2%, клотримазолу – 76,7%, хлоргексидину – 41% культур. Мирамистин, как правило, в наших исследованиях не обладал ни фунгицидным, ни фунгистатическим действием. Как следует из представленных данных, наиболее стабильно демонстрировали фунгицидный эффект тербинафин, относящийся к группе аллиламинов и обладающий широким спектром противогрибкового действия (для перорального и местного использования), и клотримазол (1-[(2-хлорфенил)дифенилметил]-1H-имидазол – синтетическое противогрибковое лекарственное средство из группы производных имидазола (для наружного и местного применения). При этом сочетание препаратов демонстрировало эффект интерференции и приводило к резкому усилению их фунгицидного эффекта.

Лечение больных с диагнозом офтальмомикоза проводили в строгом соответствии с данными, полученными в ходе лабораторного анализа. В ходе проводимой терапии стабилизация состояния пациентов вплоть до полного излечения была достигнута в 72% случаев. Таким образом, поражения глаз нередко могут иметь микотическую этиологию, и назначение соответствующей терапии способствует стабилизации процесса и исцелению больных.

### Список литературы

1. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. М.: Бином. 2003: 440 с.
2. Кашкин П.Н., Шеклаков Н.Д. Руководство по медицинской микологии. М.: Медицина, 1978: 325 с.
3. Елинов Н.П. Патогенные дрожжеподобные организмы. М.: Медицина. 1964: 384 с.
4. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. М.: Триада-Х, 2000: 472 с.
5. Medical Mycology Manual, 3rd Ed. by E.S. Beneke. Burgess Publishing Company, USA. 1970: 226 p.
6. Atlas of Clinical Fungi. 2nd edn. Eds: GS de Hoog, J Guarro, J Gene, MS Figueras. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain, 2000: 1126 p.
7. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ et al. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges. Clin Microb Rev., 2001, 14(4): 643-58.

## МИКОТИЧЕСКИЕ ПОРАЖЕНИЯ ЛОР-ОРГАНОВ ГРИБАМИ РОДА *ASPERGILLUS*

Оганесян Е.Х.<sup>1,2</sup>, Элоян И.М.<sup>1</sup>, Матевосян Р.М.<sup>1</sup>,  
Нанагюлян С.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра ботаники и микологии Ереванского государственного  
университета

<sup>2</sup>Отделение оториноларингологии Медицинского центра  
“Арамянц”, Ереван, Армения

Микотическое поражение ЛОР-органов связано с заспоренностью грибами окружающей среды, являющейся основным источником инфекции, длительным применением некоторых лекарственных препаратов, нарушающих естественную иммунную систему человека, а также с анатомическими особенностями верхних дыхательных путей, слизистая оболочка которых является одним из входных ворот для инфекции. Микологическое состояние воздуха во многом зависит от температурно-влажностного режима внутри помещений, исправленности водостоков, налаженности вентиляционной системы и т.д. [1– 3].

Распространению микозов способствуют также иммунодепрессивное воздействие вредных веществ техногенного происхождения, широкое применение иммунодепрессантов, нерациональная терапия антибиотиками, гормональными препаратами и др., что приводит к появлению таких форм микозов, которые являются не сопутствующими какому-то соматическому заболеванию, а самостоятельными нозологическими формами. Грибы являются важными возбудителями оппортунистических инфекций в основном у иммунокомпрометированных пациентов [4].

Загрязнение окружающей среды, усиление радиационного фона Земли привело к фенотипическим и генотипическим изменениям, росту природных мутаций грибов, при этом в различных экосистемах произошли сдвиги состава микобиоты в сторону потенциально патогенных для человека видов, создающих опасную эпидемиологическую обстановку [5].

Вследствие этого возросла заболеваемость и смертность от так наз. “оппортунистических” грибов, вызывающих микозы. Некоторыми авторами установлено, что колонизировать слизистые оболочки и вызывать инвазии у человека, т.е. проявлять патогенные свойства способны виды грибов, обладающие более высокими температурными оптимумами роста [6]. К этим грибам авторы от-

носят ряд видов рода *Aspergillus* (верхняя граница температурного оптимума 37 °С), грибы порядка Mucorales и др.

В числе возбудителей микотических заболеваний ЛОР-органов в Армении обнаружено 39 видов патогенных грибов, представителей классов *Zygomycetes*, *Hyphomycetes*, а также группы *Mycelia sterilia*. При изучении очагов поражения у больных с микотическим заболеванием ЛОР-органов установлена заметная схожесть симптоматики, вызываемая различными видами грибов, указывающая на необходимость точной диагностики, скрупулезного подхода к идентификации вида или сообществ патогенов – возбудителей микозов, для устранения ошибок при рекомендации лечебных препаратов. В связи с этим, нами были начаты работы по изучению распространенности и идентификации возбудителей микозов ЛОР-органов, в частности грибами рода *Aspergillus*.

Исследования больных проводились в отделении оториноларингологии медицинского центра “Арамянц” г. Еревана. Были обследованы пациенты как юношеского возраста, так и взрослые. За 2012 – 2014 гг. клиническому обследованию были подвергнуты 74 пациента в возрасте от 8 до 70 лет с гнойно-инфекционными заболеваниями носа, глотки и наружного слухового прохода. Материалом для исследования служили мазки со слизистой оболочки полости рта, носа и наружного слухового прохода (со стенок слухового прохода снимались корочки, чешуйчатое отделяемое, казеозное патологическое отделяемое), которые переносились в чашки Петри с различными питательными средами (сусло-агар, кровяной агар, Чапек-агар, среда Сабуро).

Диагноз грибковых заболеваний ЛОР-органов ставился на основании лабораторных микологических исследований, с учетом клинических проявлений болезни. Микологические анализы и идентификацию потенциально патогенных видов грибов проводили в лаборатории экспериментальной микологии на кафедре ботаники и микологии ЕГУ. Из 74 исследованных пациентов 62 были инфицированы мицелиальными грибами из рода *Aspergillus*, что составило 83,78%. У 12-ти (16,22%) обследованных пациентов инфекция не выявлена. Анализ данных об инфицировании ЛОР-органов людей разного пола, показал, что в условиях Армении количество больных женщин во все годы обследований превалирует. Микотическое поражение ЛОР-органов было диагностировано у 50 женщин и 12 мужчин. Подобное же соотношение зафиксировано А.В. Айрапетяном [7], тогда как по данным работы [8] в группе больных с ларинго- и фаринголарингомикозом превалируют мужчины.

Наши результаты показали, что у 62 больных с поражением ЛОР-органов возбудителем микоза является *Aspergillus*. По количеству встречаемости на 1-м месте у больных отмечен вид *A. niger* (34 пациента). 2-е место занимает *A. flavus* [13]. Далее по распространенности встречаются *A. ochraceus* [9] и *A. clavatus* [6] (рис. 1).

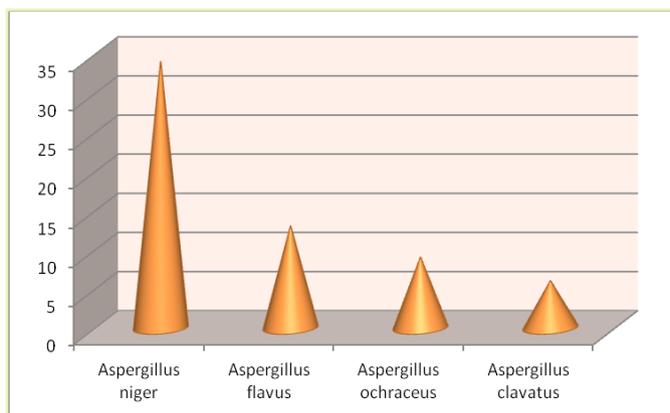


Рис. 1. Встречаемость наиболее распространенных видов рода *Aspergillus* в Армении

Известно, что наиболее частыми возбудителями токсикоза человека являются представители рода *Aspergillus*. В качестве возбудителей аспергиллеза разных локализаций в числе других видов, некоторыми авторами указаны обнаруженные и нами виды *A. niger*, *A. ochraceus* [9]. Данные относительно токсигенности упомянутых грибов приведены также в работе [10], где указано, что *A. niger* выделен из очага отомикоза наружного слухового прохода, из мокроты. *A. ochraceus* – продуцент охратоксина, оказывает на организм нефротоксическое и тератогенное действие.

В живых тканях организма человека патологический процесс коррелирует со способностью патогена-микромикета к адаптивным морфологическим видоизменениям, что свойственно также микодеструкторам, выделенным с техногенных субстратов, приводящее к значительным изменениям не только динамики их развития, но и культурально-морфологических признаков [11, 12]. К числу последних относятся видоизменения мицелия, не присущие данным видам – способность к образованию мицелиальных тяжей, хла-

мидоспороподобных клеток, склероциев. Особо важно отметить изменения в структуре конидиеносного аппарата. Так, нами было обнаружено, что при первичном посеве мазка на питательную среду, мицелий *Aspergillus ochraceus* развил конидиеносцы со вздутиями неопределенной формы без стеригм. Доказательством того, что исследуемая культура относится к роду *Aspergillus* явилось лишь наличие опорной клетки. Восстановление конидиеносного аппарата, свойственного данной культуре, было обнаружено лишь после третьего посева.

В работе [13] приводятся 37 видов рода *Aspergillus* в качестве возбудителей заболеваний человека, в перечне видов значатся все обнаруженные нами виды, вызвавшие поражение ЛОР-органов. Авторами отмечен *A. niger* как основной возбудитель отомикоза, составивший в результате наших микологических обследований 55% от всех выявленных изолятов рода *Aspergillus*.

При обследовании в наружном слуховом проходе больной, находящейся в тяжелом состоянии, выявлено сочетание грибов *Aspergillus niger* и *Candida albicans*, вызвавших гиперемию и отек в исследуемом органе. Поражение уха ассоциацией грибов *C. albicans* и *Aspergillus niger* выявлено также в работе [14]. При затяжном характере болезни *A. niger* выявляется в сообществе с иными патогенными видами грибов. Так, у больной, в анамнезе которой отмечается длительный прием антибиотиков, по истечении которого появились жалобы на зуд, неприятные ощущения в ухе с наличием чешуйчатых выделений из наружного слухового прохода, было обнаружено сообщество видов грибов, вызвавших углубление патологического процесса.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что основными возбудителями микозов ЛОР-органов в наших условиях являются представители рода *Aspergillus*, с преваляцией *A. niger*. Эффективность лечения зависит от своевременной постановки диагноза, выявления конкретного возбудителя болезни и назначения адекватной относительно возбудителя болезни системной антифунгальной терапии, поскольку несмотря на схожесть внешних проявлений микозов ЛОР-органов, механизм проникновения, распространения, воздействия на ткани организма человека разных видов патогенов различен.

### Список литературы

1. Дайняк Л.Б., Кунельская В.Я. Микозы верхних дыхательных путей. М.: "Медицина". 1979: 245 с.

2. Ильина В.Я. Эпидемиология микозов на современном этапе. Проблемы медицинской микологии. СПб. 2002; 4, 2: 65-6.
3. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. М.: БИНОМ. 2008: 480 с.
4. Рунке М. Грибковые инфекции у иммунокомпроментированных пациентов (эпидемиология, диагностика, терапия, профилактика). Пробл. мед. микол. 2000; 2, 1: 4-15.
5. Ильина В.Я. Эпидемиология микозов на современном этапе. Пробл. мед. микол. 2002; 4(2): 65-6.
6. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциально патогенные грибы в среде обитания человека. Усп. мед. микол. 2007; 9: 57-9.
7. Айрапетян А.В. Использование гелий-неонового лазера в комплексном лечении отомикоза. Автореф. дис... канд. медиц. наук. Ереван. 2005: 19 с.
8. Шляга И.Д., Редько Д.Д., Осипов В.А., Шевченко Н.И., Жаворонок С.В. Микозы верхних дыхательных путей: современное состояние и проблемы. Мед. панорама. 2008; 13: 3-7.
9. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Рук. для врачей. М.: БИНОМ. 2008: 480 с.
10. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. Киев: Наукова думка. 1988: 204 с.
11. Абрамян Дж.Г., Нанагюлян С.Г., Давтян М.М., Оганесян Е.Х. Диагностика микозов у больных с поражением ЛОР-органов. Усп. мед. микол. 2003; 1: 62-3.
12. Лихачев А.Н. Биоиндикационный потенциал микобиоты помещений. Совр. микол. в России. 2008; 2: 100-1.
13. Hoog GS, Guarro J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. Spain: CBS. The Netherlands and Universitat Rovira I Virgili, Reus. 2000: 1126 p.
14. Кунельская В.Я. Современные вопросы клиники, диагностики и лечения отомикоза. Совр. микол. в России. 2002; 1: 363.

## ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЧИСТОТЫ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ КАК ПРОФИЛАКТИКА НОЗОКОМИАЛЬНЫХ МИКОЗОВ ЛЕГОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Попов С.А.<sup>1</sup>, Пузанов В.А.<sup>2</sup>, Севастьянова Э.В.<sup>2</sup>,  
Наголкин А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>Центральный НИИ туберкулеза, Москва;

<sup>3</sup>НПФ Поток Интер, Москва

За последние 10 лет в мире наблюдается неуклонный рост заболеваемости микозами легочной локализации. По некоторым данным в России этот показатель вырос более чем в 2 раза. Среди причин этого роста наиболее частыми являются активное применение антибиотиков широкого спектра действия и иммунодепрессантов, цитостатиков, увеличение длительности жизни больных сахарным диабетом, лимфомами, лейкозами и другими опухолями, приобретенными и врожденными нарушениями иммунитета.

Кроме того, важнейшим фактором является рост распространения ВИЧ-инфекции. По частоте распространения среди этих больных микотическое поражение легких превышает туберкулез, достигая, к примеру, в странах африканского континента 34% и более. В то же время, в развитых странах (США) микозы часто сопровождают профессиональные заболевания – силикозы, асбестозы и др., являясь одной из причин повышенной смертности в этих группах пациентов. Наиболее тяжело среди легочных форм микозов в России протекают аспергиллезы, основными возбудителями которых являются *Aspergillus fumigatus* (51%), *A. niger* (30%), *A. flavus* (9%), т. е. инфекции, вызванные спороносными грибами.

Оппортунистические микозы являются актуальной проблемой в лечении больных бронхиальной астмой (БА). При респираторных аллергиях установлены высокая частота и широкий спектр грибов, играющих роль инфекционного патогена или аллергена. Микогенная аллергия выявляется у 30–78% больных БА. В практике врачей-интернистов отсутствует настороженность в отношении возможного развития микозов у пациентов с БА, в связи с этим их своевременное выявление и терапия имеет определенные сложности.

Учитывая тот факт, что микозы легочной локализации часто имеют нозокомиальное происхождение, необходимым направ-

лением по предотвращению распространения микозов легочной локализации является соблюдение мер инфекционного контроля, адаптированное под этиологию заболеваний, вызванных спороносными возбудителями.

Принимая во внимание данное положение, необходимо при проектировании систем приточно-вытяжной вентиляции (ПВВ) использовать новые высокоэффективные технологии и оборудование, позволяющие обеспечить биологическую чистоту воздушной среды не только непосредственно в помещениях медицинских и социальных учреждений, но и воздуха эвакуированного из учреждения. Известно [1], что эффективность комплекса мероприятий обеспечения санитарно-эпидемиологического режима в значительной степени обусловлена административными (А) и инженерными (И) мерами. При этом, если А меры контроля могут быть реализованы сравнительно простыми средствами и малозатратны, то И меры, включающие установку ПВВ и ежегодное профилактические сервисное обслуживание ее из расчета, в среднем, 10% от стоимости, требует несоизмеримо больших средств. Современные средства ПВВ в медицинских и социальных организациях, как правило, содержат элементы фильтрации воздуха не предусматривающие инактивацию микроорганизмов.

Очевидно, что при проблемно-ориентированном подходе необходимо устанавливать технологии инактивации и удаления инфицированных аэрозолей, что может быть реализовано посредством применения установок обеззараживания воздуха, позволяющих последовательно инактивировать микроорганизмы с эффективностью близкой к 99% и затем фильтровать инактивированную биомассу. Деятельность медицинских организаций, в которых находятся иммунокомпромитированные пациенты, должна предусматривать комплекс санитарных и противоэпидемических мер в общепринятом понимании, а также проблемно-ориентированные технологии, гарантировано обеспечивающие чистоту зон и помещений пребывания пациентов по критерию отсутствия этиологических факторов микологических инфекций.

### Список литературы

1. Система инфекционного контроля в противотуберкулезных учреждениях: Руководство. Федорова Л.С., Юзбашев В.Г., Попов С.А., Пузанов В.А., Севастьянова Э.В., Акимкин В.Г. и соавт. М. - Тверь: Изд-во «Триада». 2013: 192 с.

## ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЙ ИНВАЗИВНЫЙ КАНДИДОЗ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

*Шагдилеева Е.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Васильева Н.В.,*

*Климко Н.Н.*

*СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России,*

*Санкт-Петербург, Россия*

Актуальность темы. Инвазивный кандидоз (ИК) – самый распространенный внутрибольничный микоз [1]. Частота ИК увеличилась в связи с широким использованием инвазивных вмешательств, искусственной вентиляции легких, парентерального питания и назначения антибактериальных препаратов широкого спектра действия [2, 3]. ИК характеризуется тяжестью клинических проявлений, высокой общей и атрибутивной летальностью [4]. Отечественных исследований данной проблемы недостаточно.

**Цель работы** – изучить этиологию, факторы риска развития, клинико-лабораторные особенности, оценить эффективность лечения внутрибольничного инвазивного кандидоза.

**Материалы и методы.** Проведено наблюдательное проспективное исследование с 2011 г. по 2014 г. в стационарах Санкт-Петербурга. Использовали критерии диагностики инвазивных микозов EORTC/MSG 2008 г. [5].

Результаты исследования. Мы включили 94 взрослых пациента с диагнозом «доказанный» ИК по критериям EORTC/MSG (2008 г.), возраст – от 18 до 85 лет, медиана – 53 (38,5÷65), женщин – 52%.

Частота ИК в многопрофильном стационаре составила 0,3 на 1000 госпитализированных больных (13 / 44423), доверительный интервал по угловому преобразованию Фишера – 0,16 ÷ 0,47. На момент выявления ИК длительность пребывания больных в стационаре варьировала от двух до 162 суток, медиана – 21 день (13÷35). Основные фоновые заболевания: онкология – 32%, абдоминальная и торакальная хирургические патологии – 26%, тяжелые травмы и ожоги – 15%.

Наиболее часто ИК развивался у больных с центральным венозным катетером (ЦВК) – 91%, получавших антибактериальные препараты широкого спектра действия – 86%, ИВЛ – 66%, а также после оперативных вмешательств в течение последних двух недель – 56%.

Основные клинические варианты ИК – кандидемия (83%) и кандидозный перитонит (12%). Клинические проявления ИК неспецифичны: повышение температуры тела  $\geq 38,50\text{C}$  (45%) или

снижение < 36,00С (3%); дыхательная недостаточность (46%). Показатели оценки тяжести состояния по шкале АРАСНЕ II были от 13 до 29 баллов, медиана – 15.

У большинства больных диагноз ИК был подтвержден посевом крови (83%) или других «стерильных» в норме биосубстратов (30%). Реже диагноз был установлен на основании выявления почкующихся дрожжевых клеток при микроскопии «стерильных» в норме биосубстратов – 4% больных, гистологии биоптатов – 3% или серологии (положительных тестов на маннан и антиманнанные антитела) – 2%. Возбудителями ИК были *S. albicans* – 40%, *S. parapsilosis* – 27%, *S. glabrata* – 12%, *S. krusei* – 6%, *S. tropicalis* – 4%, *S. dubliniensis* – 1%, *S. guilliermondii* – 1%, *S. lusitaniae* – 1% и *S. famata* – 1%; идентифицированы только до рода были 8% штаммов.

Пациентам с ИК проводили дополнительные методы обследования для выявления очагов диссеминации – РГ (69%) или КТ (44%) органов грудной клетки, УЗИ (65%) или КТ (41%) органов брюшной полости, ЭХО-КГ (44%), а также МРТ или КТ головного мозга (18%). На РГ легких наиболее часто выявляли мелкие очаги (31%) и симптом «воздушной бронхограммы» (11%), на КТ легких – мелкие очаги (12%). Также обнаружены очаги диссеминации при КТ (12%) или УЗИ (10%) органов брюшной полости, при КТ или МРТ головного мозга (3%), при ЭХО-КГ в 4% случаев наблюдали признаки бородавчатого эндокардита – вегетации. Удаление или замену ЦВК в первые 24 ч после постановки диагноза ИК выполнили у 23% пациентов, более позднее удаление – 11%.

Антимикотическую терапию назначали 75 больным ИК (81%), из них антимикотики в первые сутки после постановки диагноза были назначены 45% пациентов. Наиболее часто использовали флуконазол (80%), эхинокандины (29%), вориконазол (20%), реже – липидный комплекс амфотерицина В (15%) и амфотерицин В (5%). Длительность антимикотической терапии составляла от одного до 260 дней, медиана – 15 (8÷29). Общая выживаемость пациентов в течение 30 сут составила 55%. Удаление или замена ЦВК в первые сутки, раннее начало антимикотической терапии достоверно улучшают показатели выживаемости ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Частота инвазивного кандидоза в многопрофильном стационаре – 0,3 на 1000 госпитализированных больных в год. Фоновые заболевания: онкология – 32%, абдоминальная и торакальная хирургические патологии – 26%, тяжелые травмы и ожоги – 15%; факторы риска: центральный венозный катетер – 91%, антибактериальные препараты широкого спектра действия – 86%, ИВЛ – 66%,

оперативные вмешательства в течение последних двух недель – 56%. Возбудители: *C. albicans* – 40%, *C. parapsilosis* – 27%, *C. glabrata* – 12%, *C. krusei* – 6% и *C. tropicalis* – 4%. Основные клинические варианты ИК – кандидемия (83%) и кандидозный перитонит (12%). Общая выживаемость пациентов в течение 30 сут – 55%. Замена или удаление ЦВК, а также начало антимикотической терапии в 1-е сут позволяют снизить летальность.

### Список литературы

1. Brown G, Denning D, Gow N et al. Hidden killers: Human fungal infections. *Sci Transl Med.* 2012; 4(165): <http://www.ScienceTranslationalMedicine.org/19/165rv13>.
2. Silva S, Negri M, Henriques R et al. Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species. *J Trends Microbiol.* 2011; 19(Suppl. 5): 241–47.
3. Hahnel S, Rosentritt M, Burgers R et al. *Candida albicans* biofilm formation on soft denture liners and efficacy of cleaning protocols. *J Gerodontology.* 2012; 29(Suppl. 2): 383–91.
4. Prowle J, Echeverri J, Ligabo E. et al. Acquired bloodstream infection in the intensive care unit: incidence and attributable mortality. *J Crit Care Med.* 2011; 15(2): R100. doi: 10.1186/cc10114.
5. De Pauw B, Walsh T, Donnelly J. et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *World J Clin Infect Dis.* 2008; 46(12): 1813–21.

## СОПУТСТВУЮЩИЕ ИНВАЗИВНЫЕ МИКОЗЫ У ДЕТЕЙ С ОСНОВНОЙ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

*Черновецкий М.А., Секацкая Т.Е., Кульбицкая Т.Т.*

*Республиканский НППЦ детской онкологии и гематологии  
МЗ РБ, Минск*

**Актуальность.** Иммуносупрессивное состояние, лежащее в основе развития у них грибковых инфекционных осложнений, обусловлено, как правило, применением цитостатических и иммуносупрессивных препаратов, а также антибиотиков широкого спектра действия.

**Цель работы** – определение удельного веса мицелиальных микромицетов в этиологической структуре инвазивных микозов у детей с основными онкологическими и гематологическими заболеваниями, а также апробация диагностических препаратов, направленных на определение чувствительности плесневых грибов к различным видам антимикотических препаратов.

**Материалы и методы.** Использовались клинически значимые биологические образцы (кровь, мокрота, бронхо-альвеолярный лаваж, биоптаты кожи, инфильтраты зарытых полостей и др.), полученные от пациентов с клинически выраженными признаками грибковых заболеваний.

В качестве методов диагностики применялись:

- посев крови в соответствующие коммерческие гемфлаконы с последующей инкубацией в автоматизированной системе «ВАСТЕС» производства «Becton Dickinson» (США) и «Bact/Alert» производства компании «bioMerieux» (Франция);

- посев биологического материала на селективные питательные среды производства «bioMerieux» (Франция) и «Liofilchem s.r.l.» (Италия);

- идентификация и определение антимикотикоустойчивости выделенных культур с использованием автоматизированных, полуавтоматизированных и ручных коммерческих тест-систем производства «bioMerieux» Франция и «Liofilchem s.r.l.» (Италия).

В общей сложности за период 2013–2014 гг. выделено из клинически значимых образцов биологического материала 58 штаммов микромицетов, среди которых были 16 плесневых, а также 42 дрожжевых и дрожжеподобных микроорганизмов. Особое внимание уделено мицелиальной микрофлоре, среди которой были 7 штаммов

*Fuzarium* spp (в том числе 5 штаммов из крови), 5 штаммов *Aspergillus* spp. (в том числе один *A. niger*, два *A. flavus* и один *A. fumigatus*), 2 штамма *Rhizopus* spp., по одному штамму *Penicillium* spp. и *Mucor* spp.

В рамках апробации диагностических препаратов серии MIC Test Strip производства компании «Liofilchem s.r.l.» (Италия) ряд выделенных мицелиальных микромицетов (по одному штамму *Fuzarium solani*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*) были тестированы на наличие резистентности к отдельным противогрибковым препаратам (позаконазол в концентрации от 0,002 до 32 мкг/мл, каспофунгин – 0,002 до 32 мкг/мл, амфотерицин – от 0,002 до 32 мкг/мл и флюконазол – от 0,016 до 256 мкг/мл).

Установлено, что при исследовании штамма *Fuzarium solani* минимально ингибирующая концентрация позаконозола, каспофунгина и флюконазола превышала верхний предел диапазона противогрибковых препаратов (32 мкг/мл для позаконозола и каспофунгина, а также 256 мкг/мл для флюконазола) в соответствующих диагностических тестах в виде MIC Test Strip Posaconazole, MIC Test Strip Caspofungin и MIC Test Strip Fluconazole. Аналогичный результат в части резистентности к каспофунгину и флюконазолу был получен при исследовании штаммов *A. flavus*, *A. fumigatus* и *Mucor* spp.

#### **Выводы:**

1. Частота выделения из клинически значимых образцов биологического материала наиболее агрессивных возбудителей инвазивных микозов в виде плесневых микромицетов составляет у детей с сопутствующими грибковыми заболеваниями на фоне основной онкологической и гематологической патологии 27,58%.

2. Наиболее часто встречаемым плесневым возбудителем инвазивных микозов у вышеуказанных детей является *Fuzarium* spp. (7 штаммов), частота выделения которого из крови достигает 71,42% (5 из 7).

3. Единичные исследования с использованием диагностического препарата MIC Test Strip производства компании «Liofilchem Diagnostics» (Италия) продемонстрировали возможность его практического применения в рамках оценки резистентности мицелиальной микрофлоры к различным противогрибковым препаратам.

4. Вызывает озабоченность появление в Центре детской онкологии, гематологии и иммунологии отдельных штаммов мицелиальных микромицетов, устойчивых к воздействию таких антимикотиков, как позаконозол, каспофунгин и флюконазол.

## ЛЕЧЕНИЕ ГРИБКОВОЙ ИНФЕКЦИИ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Янковой А.Г, Синютин А.А, Степанов В.А.

МОНИКИ имени М.Ф. Владимирского, Москва  
Московский областной центр трансплантации и диализа

Частота инвазивных грибковых инфекций (ГИ) у реципиентов солидных органов составляет от 5 до 20%. Среди всех больных с пересаженными органами реципиенты почечного трансплантата (РТ) имеют наименьшую частоту системных микозов, что составляет около 5%. Развитие системного микоза у реципиента почечного трансплантата повышает риск смерти в 15 раз. Наиболее часто возбудителями системных микозов у больных после трансплантации почки (ТП) являются *Candida* spp. до 80% и *Aspergillus* spp., до 60% существенное значение имеет также *Cryptococcus* spp.

**Цель исследования:** анализ клинического течения и эффективности терапии инвазивных микозов у больных в раннем периоде после пересадки почки.

**Материалы и методы.** В центре трансплантации и диализа МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с 2007 по 2014 годы выполнено 210 пересадок почки у 204 больных (122 мужчин и 86 женщин). У 6-ти больных трансплантация почки выполнена дважды. Медиана срока наблюдения после трансплантации составила 30,9 мес. Верификация микозов была основана на выявлении или выделении грибов из материала, полученного из крови, БАЛ (бронхоальвеолярного лаважа), мочи, плевральной и асцитической жидкости. Известную диагностическую роль играют определение антигенов – маннана при инфекции грибами рода *Candida* spp, или галактоманана при инфекции *Aspergillus* spp., глюкуроксиломаннана (*Cryptococcus* spp).

При выявлении дрожжеподобных грибов в моче, аспергиллезе, пациентам назначались противогрибковые препараты в/в амфотерицин В, липидный комплекс амфотерицина В («амфолип», BSV), флюконазол 150 мг/сут, вориконазол (вифенд) «Пфайзер». Амфотерицин В вводился внутривенно в дозе 0,75 – 1,0 мг/кг. В случае пирогенных реакций и нефротоксичности амфотерицин В заменялся на липидный комплекс амфотерицина В («амфолип») в дозе от 2,0 – 5,0 мг/кг. Коррекции дозы ингибиторов кальциневрина при этом не требовалось. Для поддерживающей терапии назначался флуконазол. При назначении вориконазола в дозе 200 – 400 мг/сут. в течение двух месяцев требовалось коррекция дозы прографа или

циклоспорина А. При микст-пневмониях одновременно проводилось лечение антимикотиками и антибиотиками широкого спектра действия, при микробиологической идентификации возбудителя – с учетом его чувствительности к антибиотикам.

**Результаты работы.** Изолированной нозокомиальной грибковой инфекции не наблюдалось ни у одного больного. В процессе наблюдения у 40 (19,6 %) из 204 больных зафиксирована грибковая инфекция. Лёгочные проявления системных микозов выявлены у 31 (15,1%) больного, при этом диагностированы микозы развившиеся в составе микст-инфекции (вирусно-бактериально-грибковые или вирусно-бактериально-грибково-пневмоцистные). При этом у большинства больных (70%) выявлялись признаки орофарингеального кандидоза, который у 11% из них протекал с кандидозным эзофагитом.

В 100% случаев грибковая инфекция в лёгких развивалась на фоне ЦМВ инфекции в виде распространенной пневмонии с прогрессирующей дыхательной недостаточностью. Среди высеянных из мокроты микроорганизмов преобладали грамположительные кокки – 47,8%, и грибы *Candida* spp. – 30,4%, грамотрицательные палочки составили – 12,7%. При этом изолированной грибковой инфекции не было ни у одного больного. У 25 реципиентов выявлен рост грибов *Candida* spp. при посеве мокроты. У 8 из них больных растворимый антиген *Candida* spp., в крови. У 6 пациентов обнаружена в крови и бронхоальвеолярном лаваже диагностическая концентрация галактоманна – антигена *Aspergillus* spp. У 12 (80,1%) больных дыхательная недостаточность потребовала применения ИВЛ.

Нелёгочные проявления системных микозов диагностированы у 9(4,1%) из 204 больных, из них кандидоз мочевыводящих путей у 7 больных, аспергилёз у 2. Возбудителями грибковой инфекции в 85% случаев были *Candida* spp., 15% – *Aspergillus* spp. У 38 (80%) больных при выявлении грибковой инфекции был назначен липидный комплекс амфотерицина В (АВЛС) в дозе от 2,0 до 5,0 мг/кг/сут. Лечение, как правило, начиналось с назначения амфотерицина В, который вводился внутривенно в дозе 0,75 – 1,0 мг/кг/сут., начиная с дозы 0,25 мг/кг/сут. В случае побочных реакций препарат заменялся на липидный комплекс амфотерицина В. Необходимо отметить, что у всех 4 больных при назначении амфотерицина В в 100% случаев отмечались пирогенные реакции, что требовало перевода больного на лечение липидным комплексом амфотерицина В. Коррекции дозы ингибиторов кальцинейрина при этом не

требовалось. В двух случаях при лечении кандидозной инфекции был назначен ворикоконазол в дозе 200,0 мг/кг, что привело к значительному повышению концентрации циклоспорина А в сыворотке крови и к циклоспориновой нефропатии не смотря на то, что при этом концентрация циклоспорина А была снижена на 80%. Одним из самых частым симптомом на введение амфотерицина В и его липидного комплекса является гиперазотемия – 80%. Причём, подъём креатинина сыворотки крови на введение амфотерицина В составил 25% от исходного, в то время как при назначении липидного комплекса изменение креатинина сыворотки крови составило 10 – 15%. У 17 больных наблюдались лейкопения – 42,5%, тремор и тошнота зафиксированы у 37,5%.

Снижение Нв отмечено у 27,5% больных. У 13 больных (34,2%) уровень креатинина сыворотки крови увеличился 10%, у 22 пациентов (57,2%) креатинин повысился на 15%, у 5 (13,1%) больных уровень креатинина крови не изменился. Отмечен и рост мочевины крови у 35 (92,1%) больных с 15,2 до 19,3 ммоль/л. Необходимо отметить, что во всех случаях после отмены липидного комплекса амфотерицина В отмечалось снижение уровня креатинина и мочевины сыворотки крови до субнормальных значений. Двум больным с аспергиллезной инфекцией в посттрансплантационном периоде назначен ворикоконазол 4 мг/кг/сут. При этом доза циклоспорина А была снижена на 80%, с 150,0 до 30,0 нг/мл. Несмотря на это у больного отмечена повышенная концентрация циклоспорина А, до 357 нг/мл, которая привела к острой циклоспориновой нефропатии, что подтверждено пункционной биопсией трансплантата, и ухудшению функции пересаженной почки. Ворикоконазол был заменён на липидный комплекс амфотерицина В в дозе 5,0 мг/кг/сут. Нефротоксический эффект амфотерицина не был отмечен. Концентрация циклоспорина А в крови больного была восстановлена до 154 нг/мл. Функция пересаженной почки нормализовалась.

**Заключение.** Таким образом, может быть назначена максимальная терапевтическая доза антифунгального препарата для достижения противомикозной активности широкого спектра. Лечение липидным комплексом амфотерицином В более оправдано, так как обычный амфотерицин В обладает токсическими побочными эффектами, может привести к почечной недостаточности. По нашему опыту, препаратами выбора антимикотической терапии в посттрансплантационном периоде являются липидные формы амфотерицина В; её нефротоксический эффект обратим и не представляет серьёзной угрозы для функции трансплантата.

## **Глава 4**

---

# **Кандидоз как глобальная проблема**

## **Chapter 4**

---

# **Global problem of candida infections**

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА  
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ  
ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ  
CANDIDA ALBICANS И NON-ALBICANS,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ КАНДИДОЗНЫХ КОЛЬПИТАХ**

*Азизов И.С., Шамбилова Н.А., Омарова Л.С.,  
Сакенова М.С., Наурызов Н.Н.*

*Карагандинская государственная медицинская академия,  
Казахстан*

**Актуальность.** Грибы рода *Candida* многими исследователями рассматриваются как нормальная микрофлора влагалища, поскольку в титре Lg2 КОЕ/мл они встречаются у 10–20% женщин [1]. Причины смены механизмов взаимодействия с организмом хозяина до сих пор глубоко не изучены [2] и в случае выявления грибов рода *Candida* в более высоких титрах они рассматриваются как патогены с доказанной этиологической ролью [3]. Кандидозные вульвовагиниты остаются одним из наиболее распространенных воспалительных заболеваний среди женщин фертильного возраста [4]. Кроме того, данная патология рассматривается как одна из причин снижения вторичного бесплодия в связи с сопряженными воспалительными заболеваниями органов малого таза [5].

В последние годы проблема лекарственной устойчивости микроорганизмов приобрела масштабы глобальной катастрофы [6], что актуализирует в том числе и проблему устойчивости дрожжеподобных грибов к противогрибковым препаратам.

**Цель работы** – изучить чувствительность к антимикробным препаратам грибов рода *Candida*, выделенных от женщин с кандидозными кольпитами.

**Материалы и методы исследования.** В период с января по ноябрь 2014 года проведено микробиологическое исследование влагалищного отделяемого, полученного от 52 женщин 18–45 лет. Первичное выделение проводилось на среде Сабуро. Идентификация выделенных чистых культур проводилась методом время-пролетной масс-спектрометрии MALDI-TOF на приборе Microflex (Bruker). Чувствительность к антимикотикам определялась методом дисков к следующим препаратам: нистатину (NYS100U/диск), амфотерицину В (AMB100U/диск), клотримазолу (CTR10мкг/диск), кетоконазолу (KET10мкг/диск), итраконазолу (ITR10мкг/диск) и флуконазолу

(FLU10мкг/диск). Оценка проводилась в соответствии с критериями CLSI и Neo-Sensitab (Rosco). Оценка значимости различий в пропорциях проводилась с помощью программы MedCalc 10.2.0.0. Значимыми считали различия при  $p < 0.05$ . Статистическая обработка результатов чувствительности к антимикотикам проводилась с помощью программ WhoNet 5.1 (ВОЗ).

**Результаты и обсуждение.** Выделена чистая культура в 48 случаях. По результатам видовой идентификации преобладающим был вид *C. albicans* (88,46%). *C. glabrata* оставил 5,77%, *C. krusei* – 3,88% (рис. 1).

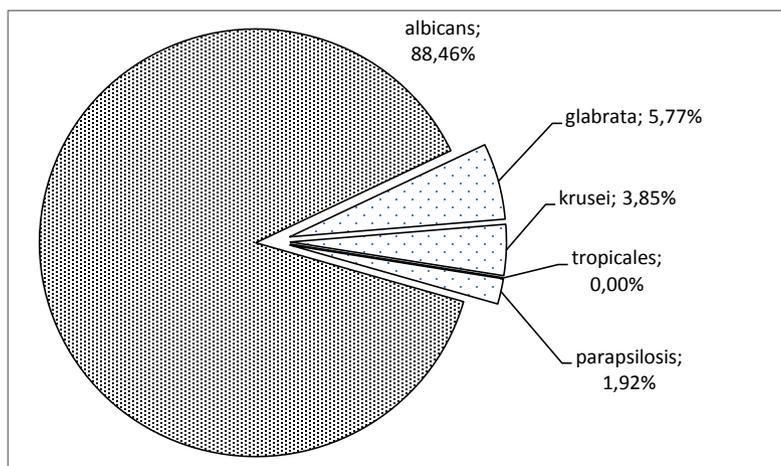


Рис. 1. Видовой состав грибов рода *Candida*, выделенных при кандидозных кольпитах.

Определение чувствительности *C. albicans* выявило высокую чувствительность изученных штаммов к препаратам азолового ряда (рис. 2). Чувствительность к клотримазолу наблюдалась в 97,8% (95% ДИ 77,71–98,68), кетоконазолу 80,0 (95% ДИ 61,04–91,19). Чувствительность к флюконазолу наблюдалась в 73,9% (95% ДИ 40,92–76,51). Около половины штаммов были нечувствительны к нистатину: 8,7% штаммов были устойчивы к этому препарату, 32,6% были умеренно устойчивы, в целом доля нечувствительных штаммов составила 45,2 (95% ДИ 25,12–60,93), однако к другому препарату группы полиенов,

амфотерицину В, доля нечувствительных штаммов не превышала 11,8% (95% ДИ 3,06–27,41).

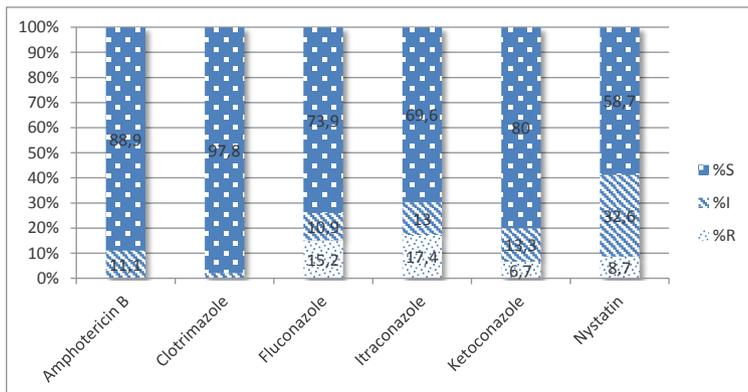


Рис. 2. Чувствительность к антимикотикам грибов *C. albicans*, выделенных при кандидозных кольпитах

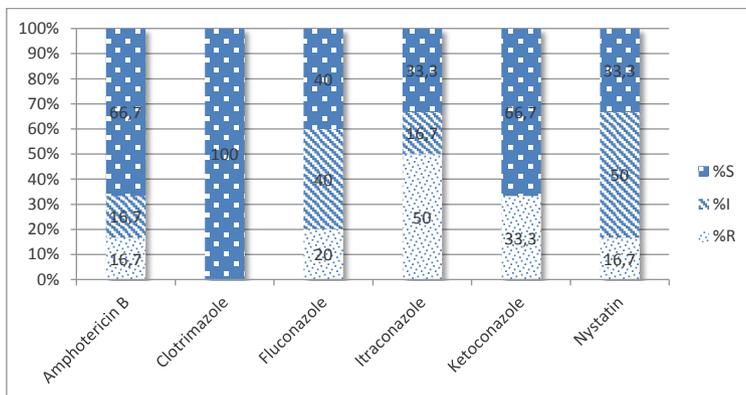


Рис. 3. Чувствительность к антимикотикам грибов *Candida non-albicans* видов, выделенных при кандидозных кольпитах

Исследование чувствительности *non-albicans* видов к антимикотикам выявлены значимые различия. Все изученные штаммы были

чувствительны к клотримазолу, однако, устойчивость к флюконазолу была выявлена в 40% (95%ДИ 1,1–70,1). Чувствительность к нистатину наблюдалась лишь в половине случаев. Устойчивость к амфотерицину В наблюдалась у каждого третьего штамма (95% ДИ 0,9–63,5%).

**Выводы.** Преобладающая масса клинических изолятов дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выделенных при кандидозных кольпитах представлена *Candida albicans*. В случае применения антимикотиков, выбор препарата должен формироваться с учетом видовой принадлежности грибов рода *Candida*.

### Список литературы

1. Xiao BB, Liu ZH, Liao QP. et all. [Microecological investigation of vaginal microflora in women with varying degree gynecologic symptoms in clinics]. 2009; 44(1): 6-8.
2. Sobel JD, Vulvovaginal candidosis. Lancet. 2007; 369(9577): 1961-71.
3. Сергеев А.Ю., Маликов В.Е., Жарикова Н.Е. Этиология вагинального кандидоза и проблема устойчивости к антимикотикам. Медицинская микология. М. 2001: 4 с.
4. Куперт А.Ф., Киборт Р.В., Попова Н.В. и др. Вагинальный кандидоз у пациенток гинекологического отделения. Бюлл. ВСНЦ СО РАМН, 2005; 1(39): 85-7.
5. Попова Н.В., Дворянский С.А., Ягодкина Н.В. Современные аспекты лечения и профилактики вульвовагинального кандидоза (обзор литературы). Вятск. мед. вестн. 2013; 4: 3-36.
6. WHO Strategies for global surveillance of antimicrobial resistance. Report of a technical consultation. 2013.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* ПРИ ДИСБИОЗЕ НОСО- И РОТОГЛОТКИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ В МНОГОДЕТНОЙ СЕМЬЕ

Гарасько Е.В., Поздышева Т.И., Гретченко Г.А., Морев С.И.

Ивановская государственная медицинская академия, Иваново

**Цель работы** – оценить микробиоценоз верхних дыхательных путей и антибиотикочувствительность выделенных штаммов у часто болеющих детей в многодетной семье.

Посев и идентификацию макроорганизмов проводили общепринятыми микробиологическими методами. Для определения чувствительности к антимикробным препаратам этиологически значимых микроорганизмов использовали диско-диффузионный метод. Изучение дисбиоза носо- и ротоглотки проводилось на базе бактериологической лаборатории ИвГМА. Под наблюдением находились дети из многодетной семьи в широком возрастном диапазоне: младенец 5 месяцев, ребенок 9 лет и подросток 18 лет. Мазки отбирали с миндалин и со слизистых оболочек носа у детей и у матери. Так же была проведена оценка факторов риска, потенциально способствующих развитию дисбиоза.

Дисбиоз III степени – наличие монокультуры *S. aureus* при резком снижении представителей нормальной флоры, выявлен у ребенка 9 лет и подростка 18 лет; дисбиоз IV степени – наличие в микробиоценозе монокультуры *S. aureus* и грибов рода *Candida* выявлен у младенца и матери. Среди микробных ассоциаций преобладали комбинации грамположительных бактерий и грибов рода *Candida*.

В результате анализа антибиотикограммы у членов данной семьи для коррекции дисбактериоза выявлена достаточно высокая чувствительность выделенных штаммов *S. aureus* к цефаклору (диаметры зон подавления 23 мм, при контрольном значении 18 мм) и бесперспективность применения полусинтетических пенициллинов. Грибы рода *Candida* проявляли высокую чувствительность к клотримазолу (диаметры зон подавления 20 мм, при контрольном значении – 12 мм) и отсутствие чувствительности к кетоконазолу.

Результаты проведенного исследования позволили выявить у всех членов многодетной семьи стафилококковый и кандидозный (у матери и младенца) дисбактериозы разной степени выраженности. Выявленные особенности свидетельствуют о необходимости дифференцированной терапии микробиологических нарушений.

## ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ *CANDIDA SP.*

Годовалов А.П., Быкова Л.П., Ларин А.Э., Ларина П.М.

Пермский государственный медицинский университет  
им. акад. Е.А. Вагнера

Микрофлора толстой кишки является одним из факторов, определяющих нормальное функционирование слизистого барьера кишечника [1]. Нарушение кишечного микробиома может привести к угнетению метаболической и секреторной активностей клеток кишечного эпителия, снижению резистентности слизистых барьеров, изменению метаболизма колоноцитов, повлиять на местный иммунный ответ [2]. Известно, что у практически здоровых лиц наблюдается бессимптомное кандидоносительство, грибы *Candida spp.* высеваются из желудочно-кишечного тракта в 25-80% случаев [3]. Кандидоз слизистых оболочек органов пищеварения является одной из наиболее частых микотических инфекций у людей всех возрастных групп [4].

В последнее время получены доказательства существования так называемой неинвазивной формы кандидоза. Как оказалось, даже без внедрения вглубь эпителия, *Candida spp.* могут вызвать патологию у человека. Полагают также, что при системном кандидозе кишечник может служить резервуаром для распространения инфекции, а поражение желудочно-кишечного тракта часто предшествует инвазивному системному кандидозу [5]. Сведения о микробиоценозе при пограничных состояниях кандиданосительства и кандидозной патологии весьма противоречивы и требуют дальнейшего изучения. В связи с этим целью исследования явилось изучение состава бактериальной микрофлоры толстого кишечника при кандиданосительстве.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов микробиологических исследований отделяемого толстой кишки за период с 2000 по 2014 гг. Было сформировано две группы пациентов. Первую группу составили пациенты, у которых были обнаружены дрожжеподобные грибки рода *Candida*. Вторую группу (группа сравнения) составили пациенты, у которых не были обнаружены грибки рода *Candida*, патогенной микрофлоры, в том числе, *Staphylococcus aureus*, не отмечалось снижение количества лакто- и бифидобактерий. Статистический анализ данных проводили с использованием непарного варианта t-критерия Стьюдента.

**Результаты.** Установлено, что в сравниваемых группах встречаемость типичных вариантов *E. coli* статистически значимо не отличается ( $p > 0,05$ ). При анализе встречаемости нетипичных *E. coli*, обнаружена статистически значимо большая встречаемость лактозанагативных и гемолитических вариантов *E. coli* в 1-й группе с кандиданегативством ( $p < 0,05$ ). Так, лактозонагативные варианты кишечной палочки в 1-й группе обнаружены в  $15,27 \pm 4,34\%$  случаев, а во 2-й –  $0,54 \pm 0,36\%$  ( $p < 0,05$ ), гемолитические – в  $16,54 \pm 4,36$  и  $0,82 \pm 0,55\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ). Кроме того, биохимически неактивные варианты *E. coli* были обнаружены только в 1-й группе –  $3,45\%$ . Среди других энтеробактерий, в 1-й группе статистически значимо реже встречались *Enterobacter* ( $1,27 \pm 0,86$  и  $7,09 \pm 1,84\%$  соответственно;  $p < 0,05$ ). Частота встречаемости *Klebsiella* и *Citrobacter* в сравниваемых группах статистически не отличалась ( $p > 0,05$ ).

При анализе встречаемости кокковой микрофлоры выявлено, что в 1-й группе *S. aureus* обнаруживается в  $30,36 \pm 5,25\%$  случаев. Частота встречаемости коагулазаотрицательных стафилококков статистически значимо в сравниваемых группах не отличалась ( $p > 0,05$ ). В 1-й группе в  $51,73 \pm 5,25\%$  случаев обнаружены бактерии рода *Enterococcus* (во 2-й –  $31,00 \pm 5,28\%$ ;  $p < 0,05$ ).

Наличие *Candida* sp. в толстокишечном биотопе существенно не влияет на численность лакто- и бифидобактерий.

**Обсуждение.** Бактерии микробиома кишечника играют важную роль в метаболических процессах, они необходимы для адекватного функционирования иммунной системы, в том числе для защиты от грибковой инфекции. Как известно, грибки могут как способствовать развитию заболеваний, так и выступать в роли патогенов. Бактерии кишечного микробиома могут ингибировать вирулентность *Candida* sp. путем торможения образования гиф и прикрепления к эпителию [6]. С другой стороны известно, что бактерии способны увеличивать вирулентность *Candida* sp. [7]. К сожалению, вопрос об изменении персистентных свойств бактерий и грибов в условиях ассоциаций остается открытым. В тоже время, его решение могло бы раскрыть механизмы межмикробных взаимодействий, определяющие формирование и поддержание микробиоценозов организма человека в норме и при различных патологических состояниях [8]. В настоящем исследовании было выявлено, что выделение грибов всегда сопровождалось обнаружением других видов условно-патогенных бактерий. Известно, что увеличение глубины микроэкологических нарушений кишечника сопровождается расширением видового состава и повышением показателя микробной

обсемененности условно-патогенных микроорганизмов [9]. В основном, данные изменения касаются грамотрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae и кокков. Но наряду с бактериальной флорой обычно происходит увеличение численности грибов рода *Candida* [10].

**Заключение.** Таким образом, при кандиданосительстве в толстокишечном биотопе происходит изменение состава микроорганизмов. На фоне выделения *Candida* sp. не отмечалось изменений состав анаэробной микрофлоры. В то же время при кандиданосительстве в биотопе толстого кишечника происходило увеличение встречаемости нетипичные варианты *E. coli*, энтерококки, *S. aureus*.

### Список литературы

1. Savage DJ, Siegel J, Snellen DW. Transit time of epithelial cells in the small intestines of germ-free mice and ex-germfree mice associated with indigenous microorganism . Appl Environ Microbiol. 1981; 42: 996–1001.
2. Schippa S, Conte MP. Dysbiotic events in gut microbiota: impact on human health. Nutrients. 2014; 6(12): 786-805.
3. Годовалов А.П., Ожгибесов Г.П., Быкова Л.П. и др. Изучение роли *Candida* sp. при дисбиозе кишечника. Пробл. мед. микол. 2008; 10(2): 34.
4. Luan C, Xie L, Yang X, Miao H et al. Dysbiosis of fungal microbiota in the intestinal mucosa of patients with colorectal adenomas. Sci. Rep. 2015; 23(5): 7980.
5. Mukherjee PK, Sendid B, Hoarau G. et al. Mycobiota in gastrointestinal diseases. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015; 12(2): 77-87.
6. Oever JT, Netea MG. The bacteriome-mycobiome interaction and antifungal host defense. Eur J Immunol. 2014; 44(11): 3182-91.
7. Cavalcanti YW, Morse DJ, da Silva WJ et al. Virulence and pathogenicity of *Candida albicans* is enhanced in biofilms containing oral bacteria. Biofouling. 2015; 31(1): 27-38.
8. Годовалов А.П., Быкова Л.П., Ожгибесов Г.П. Значение грибов рода *Candida* при воспалительных заболеваниях дыхательных путей. Сиб. мед. журн. (Иркутск). 2008; 82(7): 10-2.
9. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта. Росс. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 1998; 8(1): 66-70.
10. Леванова Л.А., Сурикова Е.В. Дисбактериозы кршхечника у населения разных возрастных групп г. Кемерово. Журн. микробиол. эпидем. иммунобиол. 2001; 1: 69-71.

## КОРРЕКЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ С УЧЕТОМ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА

*Кабулова И.В.*

*Северо-Осетинская государственная медицинская академия МЗ  
РФ, Владикавказ*

**Актуальность.** С развитием новых, микроэкологических направлений, в клинической микробиологии пересмотрен взгляд на вагинальные инфекции как на сугубо местные патологические процессы, которые мало влияют на состояние верхних отделов половой системы женщин и не ведут к нарушению репродуктивной функции. В настоящее время установлено, что нарушения состава микрофлоры влагалища, нередко протекающие бессимптомно, патогенетически связаны с широким спектром акушерских и гинекологических осложнений, таких как самопроизвольные выкидыши, преждевременные роды, эндометриты, воспалительные процессы придатков матки, приводящие в свою очередь к бесплодию [1, 2].

**Целью исследования** – оценка особенностей микрофлоры влагалища у пациенток с бесплодием и определение связи между состоянием микроценоза влагалища и формированием той или иной формы женского бесплодия на этапе периконцепционной подготовки. Оценка состояния микрофлоры влагалища проводилась у 84 женщин, страдающих длительным бесплодием различного генеза. Возраст пациенток варьировал от 19 до 38 лет. Подавляющее большинство женщин (95%) уже имели одну или более безуспешные попытки получения беременности различными методами. У всех обследуемых были исключены инфекции, передающиеся половым путем. Значительную часть (56%) контингента женщин, обратившихся по поводу лечения бесплодия, составляли пациентки, страдающие непроходимостью маточных труб.

Микробиологическая диагностика включала посев вагинального отделяемого для выделения факультативно-анаэробных и микроаэрофильных микроорганизмов и микроскопию вагинальных мазков, окрашенных по Граму. Интегральная оценка полученных при этом результатов позволяла в соответствии с разработанными критериями оценить состояние микрофлоры как нормоценоз или как одну из патологических форм: бактериальный вагиноз, кандидозный вагинит, неспецифический вагинит. К факторам риска дисбиоза влагалища относятся состояния, которые с высокой частотой встре-

чаются среди пациенток с бесплодием. Это – перенесенные воспалительные заболевания половых органов, длительно и бесконтрольно применявшиеся антибиотики и т.д. Поэтому, следует ожидать, что дисбиоз занимает весомую долю в структуре микробиологического состояния влагалища бесплодных пациенток. Выявлено, что только у 56,0% пациенток состояние микрофлоры влагалища расценено как «нормоценоз», т.е. доминирующими микроорганизмами были лактобациллы в титре 7-8 lg КОЕ/мл при минимальном количестве или отсутствии условно-патогенных микроорганизмов; отсутствовала лейкоцитарная реакция в вагинальном отделяемом. У остальных женщин диагностирована та или иная инфекционная патология влагалища. Наиболее часто встречался бактериальный вагиноз – у 24 (28,6%) больных. По данным литературы, данную патологию выявляют у 24% практически здоровых женщин [3].

Кандидозный вагинит встретился реже – у 5 (6%) пациенток, в том числе у 1 (1,2%) женщины наблюдалось сочетание вагиноза и кандидоза. У 7 (8,3%) женщин выявлен неспецифический вагинит, когда доминирующими в микроценозе были условно-патогенные микроорганизмы, которые высевались в титре более 5 lg КОЭ/мл при отсутствии (у 3 женщин) или минимальным количестве (у 4 женщин) лактобацилл. Лейкоцитарная реакция в вагинальных мазках (обычно умеренно-выраженная) отмечена у 5 из 7 женщин. В качестве этиологического фактора вагинита у 5 обследованных выделены следующие условно-патогенные микроорганизмы: в монокультуре или в ассоциации друг с другом *Streptococcus* gr. B – у 4 женщин, *Escherichia coli* – у 2, *Enterococcus faecalis* – у 1, *Enterobacter cloacae* – у 1, *Klebsiella pneumoniae* – у 1, *Proteus mirabilis* – у 1.

Выясняя связь между состоянием микроценоза влагалища и формированием той или иной формы женского бесплодия, следует отметить, что бактериальный вагиноз выявлен у 31% больных с трубно-перитонеальным бесплодием, а у 19% - при бесплодии другого генеза.

Таким образом, нельзя считать, что дисбиоз влагалища чаще встречается у женщин с бесплодием, но тенденция к этому имеется. Бактериальный вагиноз, будучи «диагностическим зеркалом», может отражать вероятность патологии верхних отделов половых труб. Ассоциация аэробов и анаэробов более устойчива к терапии и обладает большим патогенным потенциалом, что и реализуется в форме трубно-перитонеального бесплодия. Персистенция микроорганизмов в органах малого таза препятствует эффективному лечению бесплодия. Частота наступления беременности может за-

висеть от состояния микрофлоры влагалища. Даже при наступлении беременности на фоне нарушения микроценоза влагалища не всегда бывает благоприятный исход. Поэтому, обнаружение бактериального вагиноза во время обследования должно явиться поводом для поиска и коррекции более сложной патологии.

В экономическом аспекте лечение бесплодия обычно бывает дорогостоящее. Значит, каждое обследование и лечебное мероприятие, повышающее вероятность наступления беременности и благополучного ее исхода, отвечают интересам пациентки. Особенно это касается случаев нарушения микрофлоры влагалища. Недорогое обследование, приемлемые по стоимости лекарственные препараты при минимальном режиме терапии, распространение эффекта от лечения сразу на несколько этапов (возможное повышение вероятности наступления беременности, снижение риска ее невынашивания, послеродовых инфекций, антенатальная защита плода) – все это убеждает в необходимости обследования и лечения бактериального вагиноза у пациенток с бесплодием.

При обследовании пациенток с бесплодием, а также с целью подготовки к беременности при наличии инфекционного фактора обязательным является лечение воспалительных процессов нижних отделов половой системы женщины. Для лечения бактериального вагиноза применяют нео-пенотран-форте (750 мг метронидазола + 200 мг миконазола) по 1 вагинальной свече в течение 7 дней, 2% клиндамициновый крем 5 г 2 раза в сутки в течение 7 дней.

Для лечения вагинального кандидоза чаще используется местная терапия: пимафуцин (1 вагинальная свеча 3 дня), полижинакс (1 вагинальная капсула 6-12 дней), гино-певарил (1 вагинальная свеча 3 дня), клотримазол (1 вагинальная таблетка 6-12 дней), тержинан (1 вагинальная таблетка 6 –10 дней), клион-Д (1 вагинальная таблетка 10 дней) и др. Также внутрь могут быть назначены флуконазол 150 мг 1 раза в 3 дня трижды, итраконазол 200 мг 3-5 дней, кетоконазол 400 мг 5 дней. Обязательным является контроль за результатами лечения, который проводится через 1-2 месяца после окончания противовоспалительной терапии.

Перед началом лечения желательным является определение исходного иммунного статуса у пациентки. С целью коррекции иммунных нарушений широко используют Т-активин 1,0 п/к в течение 10 дней; неовир 2,0 в/м через день 10 дней; амиксин 0,25 г в сутки в течение 2 дней, затем 0,125 через 48 ч до четырех недель; генферон по 1 супп (250/500 тыс МЕ) 2 раза/сут вагинально 10 дней. Необходимым компонентом в качестве периконцепционной

профилактики на территории РСО-Алания является коррекция тиреоидной недостаточности как основной предпосылки к развитию патологии репродуктивной функции, так как данный регион относится к биогеохимическим территориям с низкой концентрацией йода [4]. Проводится назначение всем обследуемым йода в дозе 200 мкг в сутки в виде препаратов йода или в составе витаминно-минеральных комплексов.

В ответ на персистенцию условно-патогенной флоры во влагалище, как известно, развивается хронический эндометрит, при котором наблюдается нарушение рецептивной активности, что клинически может проявляться недостаточностью лютеиновой фазы [5, 6]. При этом необходимо предусмотреть физиотерапевтическое лечение. С этой целью наиболее часто применяют переменное магнитное поле низкой частоты, токи надтональной частоты, интерференционные токи, низкоимпульсное лазерное воздействие. Проведение таких процедур способствует улучшению гемодинамических процессов в малом тазу, регенерации эндометрия, а также иммуностимулирующих свойств.

Проведение лечебных мероприятий, направленных на устранение инфекционного фактора во влагалище и морфофункциональных нарушений в эндометрии, позволит экономически выгодно и с большей эффективностью восстанавливать фертильность, а также улучшить состояние здоровья будущей матери и создать благоприятные условия в момент зачатия.

### Список литературы

1. Акушерско-гинекологическая помощь. Под ред. В.И.Кулакова. М.: МЕДпресс. 2000: 93-148.
2. Здановский В.М. Современные подходы к лечению бесплодного брака. Автореф. ... дис. докт. мед. наук. М. 2000: 76 с.
3. Анкирская А.С., Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Бактериальный вагиноз: особенности клинического течения, диагностика и лечение. Рус. мед. журн. 1999; 5: 276-82.
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Трошина Е.А. Дефицит йода – угроза здоровью и развитию детей России. Пути решения проблемы (Национальный доклад). М.: ОАО НТИЦ. 2006: 32 с.
5. Макаров И.О., Шешукова Н.А., Овсянникова Т.В. Особенности прегравидарной подготовки у женщин с инфекционным генезом невынашивания беременности. Акуш., гинекол. репрод. 2011; 1: 5-7.
6. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит. М. 2010: 64 с.

## ВЛИЯНИЕ *S. ALVICANS* НА ЭКСПРЕССИЮ ИММУННЫХ ПРОТЕАСОМ И NF-KB ФАКТОРА КЛЕТКАМИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ НОСА

Камышинный А.М.

Запорожский государственный медицинский университет,  
Украина

**Введение.** Большое количество патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (ПАМП) *S. albicans*, включая хитин, глюкан, маннан, маннопротеины и гликолипиды активно распознаются такими ППР, как TLR 2,4,9, маннозные рецепторы, лектин и мандозо-связывающие лектины [1]. С поступающими из окружающей среды и обитающими на поверхности слизистых оболочек (СО) микроорганизмами первыми взаимодействуют клетки барьерных тканей, в том числе эпителиальные клетки (ЭК) и фагоциты (нейтрофильные гранулоциты, макрофаги).

В свою очередь, важными регуляторами процессинга антигенов в эпителиальных клетках являются иммунные протеасомы [2]. Низкомолекулярные белки протеасом LMP-2 и LMP-7 кодируются генами, относящимися к генам МНС II класса, и наряду с процессингом и деградацией антигенов участвуют в активации Nf-kB путем частичного протеолиза, а также в деградации ингибитора этого ядерного фактора транскрипции [3, 4]. Nf-kB – один из главных факторов транскрипции, который контролирует адаптивные реакции клеток. Фактор активируется различными физическими, химическими и микробными агентами, влияет на экспрессию более 500 генов, в том числе и генов МНС I и II классов [5].

**Цель работы** – изучить влияние присутствия в микробиоте слизистой оболочки носа *S. albicans* на экспрессию LMP-2 и Nf-kB.

**Материалы и методы.** Материалом исследования были образцы биологического материала, полученного из СО дистального отдела нижней носовой раковины 129 практически здоровых жителей г. Запорожье в возрасте от 19 до 25 лет. Получали и исследовали смывы и соскобы со СО носа. Смыв СО носа делали стерильным ватным тампоном транспортной системы AMIES. Соскоб со СО осуществляли с помощью одноразовой стерильной пластиковой кюретки диаметром 1 мм. Микробиоту СО носа исследовали с помощью культуральных методов, определяли биологические свойства микроорганизмов и экологические показатели микробиоты. Первичный посев материала выполнили на питательные среды

(BioMerieux, Франция): кровяной агар, шоколадный агар (Chocolate agar), шоколадный агар с добавлением PolyVITEX mixture.

После изучения культуральных свойств выделенных чистых культур и морфологии микроорганизмов идентифицировали чистые культуры с помощью API-тест систем (BioMerieux, Франция) в соответствии с прилагаемой к набору. С помощью программы «Apiweb, stand alone V 1.2.1» определяли видовую принадлежность микроорганизма. Определяли популяционный уровень и индекс постоянства микроорганизмов в составе микробиоты.

Функциональную активность клеток СО носа характеризовали на основе данных иммуноцитофлуоресцентного обнаружения иммунной субъединицы протеасомы LMP-2 и транскрипционного фактора Nf-κB в соскобах. Для выявления экспрессии LMP2 и Nf-κB препарат обрабатывали первичными кроличьими моноклональными антителами к иммунной субъединице протеасомы LMP-2 или субъединице p50 и её прекурсора p105 Nf-κB (Santa Cruz Biotechnology, США).

После отмывания избытка первичных антител в 0,1 М фосфатном буфере, соскобы инкубировали 60 мин (37 °C) с вторичными антителами к полной молекулы IgG кролика, конъюгированными с FITC. Иммунопозитивные клетки изучали с помощью компьютерной программы ImageJ (NIH, США). Изображение, получаемое на микроскопе PrimoStar (ZEISS, Германия) в УФ-спектре возбуждения 390 нм (FITC) немедленно вводилось в компьютер с помощью высокочувствительной камеры AxioCam 5c (ZEISS, Германия) и пакета программ для получения, архивирования и подготовки изображений к публикации AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Германия).

В автоматическом режиме определялись области со статистически значимой флуоресценцией, характерной для клеток, экспрессирующих LMP-2 и Nf-κB. Вычисляли морфометрические и денситометрические характеристики иммунопозитивных клеток. Полученные в работе данные обрабатывались методами непараметрической статистики, с помощью программы «STATISTICA-6,1». Статистические данные представлены в виде: медиана (25%–75%-ные перцентили). Достоверность различий между показателями в группах оценивали с помощью критерия U-Мана–Уитни.

**Результаты и обсуждение.** Изучение качественного состава микробиоты СО носа здоровых жителей г. Запорожье показал, что по значению индекса постоянства в составе микробиоценоза СО носа микроорганизмы расположились следующим образом (от наибольшего к наименьшему): *S. epidermidis*, *S. aureus*, *C. albicans*,

*S. xylosus* и *Str. pneumonia*. В табл. 1 представлены значения экспрессии TLR-2 и TLR-4 клетками СО носа в зависимости от наличия в составе микробиоты *C. albicans*.

Таблица 1. Количество TLR-2<sup>+</sup>- и TLR-4<sup>+</sup>-клеток в СО носа и плотность TLR в зависимости от наличия *C. albicans* в микробиоте СО носа.

Вид микроорганизма	<u>Количество иммунопозитивных клеток</u> плотность рецепторов			
	TLR-2 <sup>+</sup> -нейтрофилы	TLR-2 <sup>+</sup> -эпителиоциты	TLR-4 <sup>+</sup> -нейтрофилы	TLR-4 <sup>+</sup> -эпителиоциты
<i>S. epid.</i>	93,0 (85,0 - 100) 0,13 (0,12 - 0,16)	72,0 (60,0 - 91,0) 1,10 (0,94 - 1,23)	85,0 (66,0 - 90,0) 0,13 (0,10 - 0,14)	54,0 (46,0 - 62,0) 1,10 (0,93 - 1,28)
<i>C. alb.</i>	90,0 (88,0 - 95,0) 0,14 (0,13 - 0,17)	80,0 (65,0 - 96,5) 1,29 <sup>(1)</sup> (1,20 - 1,50)	86,0 (52,5 - 100) 0,15 <sup>(1)</sup> (0,13 - 0,17)	60,0 (45,0 - 73,0) 1,44 <sup>(1)</sup> (1,22 - 1,66)

Примечание: достоверность отличий параметров при  $p < 0,05$  по отношению к группе *S. epid.*<sup>(1)</sup>

Как видно, количество TLR-2<sup>+</sup>-нейтрофилов и интенсивность экспрессии нейтрофилами TLR-2 в группе с наличием *C. albicans* в СО носа не отличается статистически от аналогичных показателей этих клеток в группе с наличием *S. epid.* в СО носа. Обнаружена статистически значимо на 17,3% ( $p = 0,028$ ) большая интенсивность экспрессии TLR-2 ЭК СО носа в группе с наличием *C. albicans* в данном биотопе по сравнению с интенсивностью экспрессии TLR-2 ЭК СО носа в группе с наличием *S. epid.* Наличие в *C. albicans* в СО носа повлияла также и на статистически значимое увеличение уровня экспрессии TLR-4 нейтрофилами на 15,4% ( $p = 0,025$ ).

В группе с наличием *C. albicans* статистически больше на 30,9% ( $p = 0,003$ ) были показатели плотности экспрессии TLR-4 ЭК.

Таблица 2. Количество LMP-2<sup>+</sup>- и Nf-kB<sup>+</sup>-клеток в СО носа и их концентрация в зависимости от наличия *S. albicans* в микробиоте СО носа.

Вид микроорганизма	Количество иммунопозитивных клеток Концентрация белков			
	LMP-2 <sup>+</sup> -нейтрофилы	LMP-2 <sup>+</sup> -эпителиоциты	Nf-kB <sup>+</sup> -нейтрофилы	Nf-kB <sup>+</sup> -эпителиоциты
<i>S. epid.</i>	45,0 <u>(40,0 – 55,0)</u> 0,11 (0,10 – 0,12)	45,0 <u>(40,0 – 47,0)</u> 1,07 (1,02 – 1,14)	44,0 <u>(40,0 – 53,0)</u> 0,11 (0,10 – 0,12)	55,0 <u>(50,0 – 60,0)</u> 1,07 (0,98 – 1,14)
<i>C. alb.</i>	58,0 <sup>(1)</sup> <u>(50,0 – 61,0)</u> 0,13 <sup>(1)</sup> (0,12 – 0,15)	62,0 <sup>(1)</sup> <u>(52,0 – 68,0)</u> 1,30 <sup>(1)</sup> (1,14 – 1,47)	48,0 <u>(40,0 – 57,0)</u> 0,14 <sup>(1)</sup> (0,13 – 0,16)	68,0 <sup>(1)</sup> <u>(62,0 – 80,0)</u> 1,52 <sup>(1)</sup> (1,22 – 1,61)

Примечание: достоверность отличий параметров при  $p < 0,05$  по отношению к группе *S. epid.*<sup>(1)</sup>

Далее было проведено исследование экспрессии LMP-2 и Nf-kB клетками СО носа в зависимости от наличия в составе микробиоты *S. albicans* (данные представлены в табл. 2.). Анализируя представленные данные видно значительно большее количество статистически значимых различий между группами по показателям экспрессии LMP-2 и Nf-kB клетками СО носа, по сравнению с TLR. Так, количество LMP-2<sup>+</sup>-нейтрофилов и концентрация LMP-2 в нейтрофилах были статистически значимо соответственно на 29% ( $p = 0,01$ ) и 18,2% ( $p = 0,001$ ) больше в группе с наличием *S. albicans*. Так же статистически значимо больше соответственно на 37,8% ( $p = 0,001$ ) и 21,5% ( $p = 0,006$ ) было количество LMP-2<sup>+</sup>-эпителиоцитов и концентрация LMP-2 в ЭК при наличии *S. albicans*. Количество Nf-kB<sup>+</sup>-нейтрофилов в группе с наличием *S. albicans* не имело ста-

статистически значимых отличий от количества Nf-kB<sup>+</sup>-нейтрофилов в группе с наличием *S. epidermidis*, тогда как концентрация Nf-kB существенно отличалась. Так, концентрация Nf-kB в нейтрофилах была статистически значимо на 27,3% ( $p = 0,001$ ) больше в группе с наличием *C. albicans*. Статистически значимо больше на 23,6% ( $p = 0,001$ ) было количество Nf-kB<sup>+</sup>-эпителиоцитов в группе с наличием *C. albicans* при отсутствии статистических различий между этими группами по концентрации Nf-kB в эпителиоцитах. Концентрация Nf-kB в ЭК с наличием *C. albicans* в составе микробиоты СО носа была статистически значимо больше на 42% ( $p = 0,001$ ).

Исследование механизмов и факторов, влияющих на взаимоотношения *C. albicans* с эффекторами первого уровня (мукозальные эпителиоциты, нейтрофилы) позволит расширить представление о причинах развития кандидозной инфекции и возможных путях ее регуляции. В экспериментах на культуре кератиноцитов человека показано, что киллинг *C. albicans* зависит от активации TLR-2 и TLR-4, указывая на их важную роль не только в распознавании, но и в развитии механизмов антимикробной защиты [6].

Автором также было установлено, что активация в нейтрофилах внутриклеточных сигнальных путей, связанных с нуклеарным фактором kB опосредуется специфическими контактами с *C. albicans* и ведет к увеличению продукции активных форм кислорода фагоцитами. *Candida*-индуцированная активация ядерного фактора kB в эпителиоцитах усиливает их адгезивность к *C. albicans*.

Подтверждают это данные о том, что блокада NF-kB ведет к снижению уровня адгезии *C. albicans* к эпителиоцитам, что указывает на участие NF-kB в регуляции процессов, обеспечивающих контакт между эпителиоцитами и кандидами [7]. Активация эпителиальных клеток *C. albicans* стимулирует продукцию цитокинов, которые привлекают и активируют нейтрофилы. Показана также способность нейтрофилов противодействовать колонизации *C. albicans* [8]. Экспериментальные работы на TLR2<sup>-/-</sup> мышах показали, что они являются более устойчивыми к распространению кандидоза чем мыши дикого типа [9].

### Список литературы

1. Romani L. Immunity to fungal infections. Nature Reviews. Immunology. 2004; 4: 1-13.
2. Basler M, Kirk C, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. Curr Opin Immunol. 2013; 25: 74-80.

3. Angeles A, Fung G, Luo H. Immune and non-immune functions of the immunoproteasome. *Frontiers in Bioscience*. 2012; 17: 1904-16.
4. Krüger E. Immunoproteasomes at the interface of innate and adaptive immune responses: two faces of one enzyme. *Curr Opin Immunol*. 2012; 24: 77-83.
5. Hayden M, Ghosh S. NF- $\kappa$ B in immunobiology. *Cell Res*. 2011; 21: 223-44.
6. Blasi E, Mucci A, Neglia R. Biological importance of the two Toll-like receptors, TLR2 and TLR4, in macrophage response to infection with *Candida albicans*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2005; 44: 69-79
7. Gratacap R, Rawls J, Wheeler R. Mucosal candidiasis elicits NF- $\kappa$ B activation, proinflammatory gene expression and localized neutrophilia in zebrafish. *Dis Model Mech*. 2013; 4: 48-56
8. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Факторы резистентности и иммунитет при грибковых инфекциях кожи и слизистых оболочек. *Иммунопатол., аллергол, инфектол*. 2004; 1: 6-14
9. Naglik J. Epithelial cell innate response to *Candida albicans*. *ADR*. – 2011; 23: 50–5.

## ОПТИМИЗАЦИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ КАНДИДОЗОВ У ЖЕНЩИН ФЕРТИЛЬНОГО ВОЗРАСТА

*Хамидов Ф.Ш., Эргашева З.А., Абдуназаров Т.А.,  
Эшонхужаев О.О., Солиев Д.А.*  
Андижанский Государственный медицинский институт,  
Узбекистан

**Цель исследования** – провести сравнительную оценку эффективности и безопасности дифференцированного дозированного применения противогрибковых препаратов при лечении кандидозов у женщин.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужили 68 женщин фертильного возраста болеющих кандидозом, получавших терапию противогрибковыми препаратами. Дифференцированная терапия проводилась препаратом флуконазол.

**Результаты.** При общей терапевтической эффективности в суточной дозе 200-400 мг/сут были выявлены наиболее эффективные и безопасные дозировки препарата. При кандидозах слизистых оболочек была отмечена сравнительно равная терапевтическая эффективность при дозах 50-100-150 мг/сут, однако при дозировке 150-200 мг/сут без усиления лечебного действия значительно чаще возникали побочные действия препарата, что оценивается как повышение потенциальной опасности лекарственного средства. При вагинальном кандидозе эффективны дозы от 150 до 400 мг/сут, однако наибольшая эффективность и наивысшая безопасность отмечалась при использовании дозировки 200 мг/сут, что следует принимать во внимание при назначении препарата при данной патологии. При системных кандидозах, вопреки ожидаемому усилению эффекта при повышении дозы (дозозависимый эффект), мы не получили подтверждения и обоснованности увеличения дозы препарата, который проявлял свою эффективность и в суточной дозе 300 мг/сут. Единственно значимое усиление эффекта в более короткие сроки наблюдалось при первичной внутривенной инфузии лекарственного средства с последующим переходом на пероральные формы.

**Вывод.** Необходима дифференцированная рациональная фармакотерапия различных видов кандидозов с учетом наиболее эффективной и относительно безопасной суточной и курсовой дозы лекарственного средства.

## ФАРМАКОЭПИДЕМИОЛОГИЯ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

*Хамидов Ф.Ш., Абдуназаров Т.А., Солиев Д.А.,  
Эшонхужаев О.О., Эргашева З.А.*

*Андижанский Государственный медицинский институт,  
Узбекистан*

**Цель исследований** – оценка частоты и качества использования противогрибковых средств, при беременности.

**Материалы и методы.** Работа является неэкспериментальным, описательным, ретроспективным, фармакоэпидемиологическим исследованием. В исследование включили результаты ретроспективного анализа историй болезней 1078 беременных женщин, которые были госпитализированы в четырёх родильных комплексах Андижанской области. Средний возраст беременных в центрах был примерно одинаковым и составил 24,8 +1,2 (миним. 16 – макс. 43) лет.

**Результаты и обсуждение.** В структуре заболеваний преобладали: инфекции мочевыводящих путей – 47,3% (511), (из них 57,1% хронический пиелонефрит, 40,9% острый пиелонефрит и 2,0% пиелостит); на втором месте угроза на преждевременные роды – 21,0% (226); анемия (1-, 2- и 3-й степени) – 18,4% (198); бронхит (54) и гестоз (55) – по 5,1%; кольпит – 2,0% (22); гидронефроз (3), холецистит (3) и токсоплазмоз (3) – по 0,3%; токсикоз (1), киста яичника (1), и системная склеродермия (1) – по 0,1%.

Из противогрибковых препаратов использовался нистатин в 44 (2,9%) случаях, из них в центре «А» – не применялся; «В» – 4 (9,1%); «С» – 26 (59,1%) и «D» – 14 (31,8%). Для изучения безопасности фармакотерапии использовалась классификация риска применения лекарственных средств при беременности разработанная Управлением по контролю за лекарственными и пищевыми продуктами США, где нистатин по безопасности отнесен к категории «А», препараты которые, являются безопасными для беременных.

**Вывод.** Противогрибковая терапия при беременности проводится в 2,9% случаев госпитализации. По структуре заболеваний можно судить о том что, назначение противогрибковых средств проводится необоснованно, с целью предупреждения осложнений необоснованной антибактериальной терапии.

## БИОПЛЕНКИ ГРИБОВ: РЕШАЮЩАЯ РОЛЬ ИНИЦИАТОРА СБОРКИ В ПРОЛОНГИРОВАНИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДЕГРАДАЦИИ

*Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Корсун В.Ф., Алешкин В.А., Афанасьев М.С.*

*МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва;*

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;*

*Институт фитотерапии, Москва*

**Введение.** Лектины (белки и белок-содержащие комплексы) распознают гликоконъюгаты (ГК), действуют как индукторы и антагонисты цитоагглютинации (ЦА) и образования биопленок (БП), имитируют свойства клеток, кофункционируют с ферментами и их белковыми ингибиторами, являются сигналами межклеточных коммуникаций [1].

**Цель работы** – обобщить наши результаты исследования участия лектинов в направленных клеточных сборках.

**Материалы и методы.** Использовали препараты лектинов грибов (ЛГ) четырех видов, значимых для медицины, и пробиотических бактерий (кислых ЛПБ лактобацилл и бифидобактерий [ЛЛ, ЛБ]) [1, 2], ГК «Углевод-полиакриламид (ПАА)» ([www.lectinity.com](http://www.lectinity.com)), эритроциты (Эц) групп крови А(II), фосфатно-солевой буфер рН 7.2 (ФСБ), обработанные трипсином Эц (трЭц) или N-ацетил-D-нейраминидазой (сиЭц) [2-4]. Эц с экспонированными остатками GalNAc имитировали асиаломуциновую поверхность. ЦА получали в полистироловых круглодонных микропанелях с серийными разведениями (СР) лектинов в ФСБ (24-48 ч, 40С). Для сборок использовали сенсibilизированные твердофазными лектинами (ЛПБ/ЛГ) микропанели (СТЛМ: СТЛПБМ, СТЛГМ), в которые вносили суспензии трЭц/сиЭц или последовательные парные комбинации Эц (конечная концентрация в лунках - 2%). В процессе хранения БП при 40С в течение 3 недель (далее картины БП мало менялись) периодически ресуспендировали клетки в лунках, в том числе до и после добавления ГК. Оценивали титры лектинов и рассасывающие агглютинаты активности (РАА). ЛПБ индуцировали ЦА белкового типа моносистемами сиЭц> трЭц>> Эц, а в случаях ЛГ картины ЦА отражали вклад полисахаридов (чувствительность ЦА снижалась: трЭц> сиЭц>> Эц). Способность к рассасыванию ЛПБ-

индуцированной ЦА сиЭЦ/трЭц после добавления ГК снижалась в ряду GalNac-ПAA > Man-ПAA/Man-6-P-ПAA > GlcNac-ПAA. ЦА ЛГ преимущественно ингибировалась Man-ПAA, Man-6-P-ПAA и их суммой. Для сборок использовали суспензионные формы лектинов (комбинации трЭц-ЛПБ/ЛГ и сиЭц-ЛПБ/ЛГ), которые получали инкубацией трЭц/сиЭц в ФСБ с субагглютинирующими концентрациями лектинов. Проявление лектинов системой «СТЛМ + ЛПБ/ЛГ-трЭц/сиЭц + ЛГ/ЛПБ-трЭц/сиЭц» усиливало ЦА на несколько порядков. Лучшие титры ЛПБ и ЛГ достигались при использовании сиЭц-сиЭц или трЭц-трЭц, соответственно.

**Результаты.** Сборки А «СТЛМ+ЛГ-трЭц/сиЭц)+(ЛПБ-трЭц/сиЭц)» и сборки Б «СТЛПБМ+ЛПБ-трЭц/сиЭц)+(ЛГ-трЭц/сиЭц)» в микропанелях характеризовались различной устойчивостью и разнообразием картин ЦА при хранении. В случае сборок А (в сравнении со сборками Б) достигались пролонгированные (3 недели) менее выраженные РАА. Характер сборок А указывал на инициирующее участие грибных полисахаридов. При высоких (в сенсорной области) луночных разбавлениях оба типа сборок (особенно Б) характеризовались уникальными мозаичными картинками деградации (снижение цветности Эц, нарушение дозовой зависимости ЦА, модулирование РАА, усиление агрегационных необратимых процессов и ферментативных шивок в БП (регистрируется через 2-3 сут), частичный выход гемоглобина и его превращение в вердоглобин).

Панель из 5 ГК заметно модулировала сборки ЦА типа Б (GalNac-ПAA сохранял наиболее выраженные ингибиторные свойства), но слабо действовала на более резистентные сборки типа А. В варианте сборки А наблюдался антагонизм ЛГ и ЛПБ. Способность к деградации коаггутинационной БП у ЛБ была выше в сравнении с ЛЛ. Картины ЦА типа А обладали сходством с БП дрожжеподобных клеток кандид: выявлялись РАА гидролитической природы (на фоне усиленного цитолиза нативных (не обработанных ферментом) Эц в случае ЛГ) и вклад полисахаридов в образование БП и их защиту. Отсутствие или выраженность обоих грибных факторов были видо/штаммо-зависимыми (диагностическими). Прилагается каталог фотографий, иллюстрирующих результаты.

**Заключение.** Результаты указывают на важность инициирующей адгезию этапа сборки молекулярно-клеточных градиентов для прогнозирования и регулирования резистентности/ деградации ранних и зрелых грибных БП, ключевую роль полисахаридов в иницииции и защите ранних и зрелых БП, способность ЛПБ и ГК модулировать сборки БП, в том числе деградировать их. Результаты

демонстрируют потенциал использования коаггутинационных цветных БП в моделировании функционально активных клеточно-цитокиновых градиентов. Перспективны исследования лектин-ферментного кофункционирования на стыках БП – архитектуры формирования новых активностей.

### **Список литературы**

1. Lakhtin M, Lakhtin V, Aleshkin A et al. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology, In: "Probiotics 2012", Ed. by E.C. Rigobelo, 2012: 417–32.
2. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Корсун В.Ф., Шендеров Б.А. Совместный потенциал лектинов пробиотических микроорганизмов и грибов в условиях организации и функционирования модельных эукариотических клеточных биопленок – для дальнейшего использования в клинической практике в составе фитокомпозиций. *Практ. фитотер.* 2008; 2: 11-17.
3. Лахтин М.В., Караулов А.В., Лахтин В.М. и др. Лектин-гликоконъюгатные системы в организме человека. *Иммунопатология, аллергия, инфектол.* 2012; 1:27-36.
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. и др. Прогресс лабораторной биотехнологии в определении клеточных биопленок: собственные исследования. *Биотехнология – от науки к практике: Материалы научных докладов участников Всероссийской конференции с международным участием.* Уфа: Башкирский ГУ, 2014; Т. 2: 127 - 134.

## ВЗАИМОВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ: ПОТЕНЦИАЛ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Лахтин М.В., Лахтин В.М., Байракова А.Л., Афанасьев С.С.

ФБУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского, Москва

**Введение.** Дрожжеподобные грибы (ДПГ) являются естественной составляющей микробиома человека. Среди них повышенное внимание уделяется условно-патогенным ДПГ - кандидам. Взаимоотношения ДПГ и пробиотической составляющей микробиома человека, включающей грамположительные бактерии (ГПБ: лактобациллы, бифидобактерии, другие), характеризуют состояние биотопа. Биопленкообразование (БПО) микроорганизмами – результат мультифакторного процесса, который информационно богат и может быть отслежен.

**Цель работы** – обобщить собственные результаты об участии ДПГ человека в БПО [1–5].

**Материалы и методы.** Исследовали БПО в моно- и смешанных культурах лактобацилл (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*; общий пул – 8 штаммов) и кандид (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*; общий пул – 32 штамма) урогенитального биотопа пациентов в процессе роста в MRS в микропанелях (48 ч, 37°C). БПО фотографировали, сканировали, окрашивали, измеряли связавшийся краситель, ранжировали. В ранжировании БПО штаммами учитывали влияние пулов лактобацилл (или кандид) на БПО каждого штамма кандидат (или лактобацилл).

**Результаты.** Лактобациллы (в особенности виды *L. acidophilus* и *L. casei* с низкой способностью к БПО и высоким потенциалом продуцирования систем пробиотических лектинов) штамм-зависимо супрессировали рост и БПО некоторыми антимикотикорезистентными кандидами. Наблюдалось вид-зависимое ранжирование БПО штаммами кандидат (или лактобацилл) под влиянием пулов лактобацилл (или кандидат). Сблоченность БПО в рядах ранжирования отражала консорциумность на уровне субвидов, видов и надвидов. Установлены лидерные штаммы лактобацилл (*L. acidophilus*, *L. casei*) и кандидат (*C. albicans* [антимикотикорезистентный штамм], *C. krusei*) в межпуловом взаимодействии лактобацилл и кандидат на БПО.

Выявлены варианты субвидовых блоков штаммов кандид (под влиянием лактобацилл-лидеров) в рядах ранжирования, указывающие на широкую адаптивную изменчивость *C. albicans* в сравнении с другими видами кандид, а также близость биотопных метаболических и других экологических свойств *C. albicans* и *C. tropicalis* (потенциально высококонкурентных в борьбе за экологические ниши), относящихся в группе максимального числа выявленных в настоящее время возбудителей болезней ДПП-природы.

На основании рядов сравнительного ранжирования БПО рассчитаны схемы возможной регуляции межпулового видзависимого влияния (*Lactobacillus – Candida*; *Candida – Lactobacillus*), направленные на учет, адаптацию и коррекцию отдельных видов ГПБ и ДПП в рамках сцепленных межвидовых связей в микробиоценозах. Дана оценка влияния расширенной панели антимикотиков на видзависимое ранжирование БПО смешанными культурами кандид, позволяющая выявлять лидерный антимикотик (как средство регуляции видовой презентации ДПП в биотопе) для любого индивидуального популяционного микробиоценоза биотопа, характеризовать биотопную индивидуальность других антимикотиков, сочетать панель антибиотиков с данными о пробиотическом компартменте биотопа. Вместе антибиотики и пробиотические ГПБ характеризовались как скоординированные расщитываемые анти-ДПП-агенты, модуляторы сцепленных событий в биотопе, факторы повышения глубины/буферной емкости здорового баланса биотопа.

**Заключение.** Результаты указывают на разнообразие возможностей дальнейшего применения метода ранжирования БПО в оценке межпулового взаимовлияния (другие варианты ГПБ – ДПП, для биотопа отдельного пациента, между пулами больших размеров, меж/внутри-консорциумные связи, влияние молекулярных, биохимических, полимерных и физических факторов; конструирование консорциумов различной направленности, биотопных антимикробных лекарств и профилактических средств; сочетание с молекулярно-генетическими и микроскопическими исследованиями для диагностики; повышение уровней алгоритмизации и автоматизации).

### Список литературы

1. Лахтин М.В., Байракова А.Л., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. Супрессия биопленкообразования антибиотико-резистентными кандидами в присутствии лактобацилл урогенитального биотопа человека. Усп. мед. микол. 2014; 12: 38-41.

2. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л. и др. Антибиотики как селективные упорядочивающие перестройщики эукариотического микробиоценоза человека: на примере пула кандид популяционного уrogenитального биотопа. Инфекц. болезни. 2014; 12 (прилож. №1): 171.
3. Lakhtin M, Lakhtin V, Bajrakova A, Afanasiev S. Calculation of the Coupled System “Lactobacillus-Candida” of balanced multispecies knot of biotope network depending on biofilm forming. BIOSpektrum (Springer). 2014; 4: 296.
4. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. и др. Роль лидерных штаммов одних видов в упорядочивании, инициации и переключении сосуществующих в биотопе (суб)популяций микроорганизмов других видов. Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы. III Международная научная Интернет-конференция : материалы конф. (Казань, 16 апреля 2014 г.) / Сервис виртуальных конференций Pax Grid ; сост. Синяев Д. Н. Казань: ИП Синяев Д. Н. 2014: 143-46.
5. Алешкин А.В., Караулов А.В., Светоч Э.А. и др. Бактериофаги – пробиотические средства регуляции микробиоценозов и деконтаминации микроорганизмами продуктов питания, животных и растений. Иммунопатол., алергол, инфектол. 2013; 3: 80-9

## ИМЭДЖЕВЫЙ КОНТРОЛЬ КОММУНИКАТИВНЫХ ГРИБКОВЫХ ТЕЛ В ПРИСУТСТВИИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ-РАСПОЗНАЮЩИХ СИСТЕМ: ПЕРСПЕКТИВА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИМЭДЖЕВОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С.,  
Байракова А.Л., Алешкин В.А.

ФБУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н. Габричевского, Москва

**Введение.** Установлены принципы имэджевого (ландшафтного) поведения патогенного коммуникационного тела грибка (КТГ) в присутствии «полимерные поливалентные гликоконъюгаты муцинового типа»- распознающих пробиотических систем (ППГКМТРПС), имитирующих клеточные пробиотики [1-10]. Поведение КТГ в ответ на пролонгированное присутствие ППГМТРПС были одинаковыми в системах Кандиды – ППГКМТРПС микроценозов кишечного и урогенитального биотопов человека. КТГ и ППГКМТРПС характеризуются дистанционным действием, что позволяет им участвовать в функционировании метаболомных осей «Микроценозы –Ткани и органы».

**Цель работы** – предложить дополнительные антимикробные/противогрибковые стратегии и подходы, которые могли бы быть полезны в имэджевых исследованиях грибковых тканевых и органных инфекций и для направленной терапии.

**Материалы и методы.** В качестве имэджевых моделей использовали стандартные условия роста и биопленкообразования на стандартных средах клинических штаммов *Candida* в присутствии мозаично расположенных дисков с ППГКМТРПС. Имэджи КТГ регистрировали в условиях пролонгированного стресса [2, 3].

**Результаты.** Стратегии и предложения:

1. Поддержка имеющихся в биотопах синбиотических систем, доставка в организм синбиотиков с поверхностноклеточными синергистическими антимикробными (противогрибковыми) ППГКМТРПС.

2. Усиление антимикробных эффектов за счет сцепленного действия ППГКМТРПС с синтетическими МТРПС и экзополимерными соединениями, продуцируемыми пробиотиками.

3. Направленная сенсбилизация ландшафтов КТГ (кандид) под воздействием мозаики ППГКМТРПС для конверсии внутренних (выраженных мультислоевых) цельных областей КТГ в островные меньшие (моновидовые) и более выраженные (би- и мультивидовые) включения с усиленной доступностью КТГ к антимикотикам.

4. Ограничение мультигрибковых биопленок (*Candida albicans*+*Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*) выбором синергистических комбинаций «ППГКМТРПС +Антимикотики».

5. Учет конверсии одно-несколько-центрального КТГ в мульти-центровое КТГ, повышающей антибактериальный потенциал локального окружения, препятствующий дегенеративным процессам бактериальной природы.

**Заключение.** Стратегии и предложения перспективны в имэд-жевом анализе массивов и биопленок паразитирующих патогенных КТГ и разработке на их основе системных способов ограничения, разрушения и устранения такого рода КТГ.

### Список литературы

1. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. и др. Противогрибковый потенциал лектиновых пробиотических и фитопрепаратов: типы, механизмы и факторы действия против патогенных грибов человека. *Практ. фитотер.* 2009; Спец. выпуск: 17-25.
2. Lakhtin M, Alyoshkin V, Lakhtin V et al. Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: new class of pathogen biofilm destructors. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2010, 2(3), 186-196, Doi: 10.1007/s12602-010-9046-3.
3. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. и др. Фито- и пробиотические лектины – синергичные антипатогены. *Практ. фитотер.* 2010; 1: 5-11.
4. Lakhtin M, Lakhtin V, Bajrakova A et al. Human biotope probiotic bacterial lectins as signal system supporting biotope healthy balance. *Immunology (BSF J)*. 2011; 135(S1): 111.
5. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Afanasyev SS et al. *Candida* clinical strain mass acts as communicative body which control area: symmetrical landscapes altered by antifungals. *ESPID 29 (Hague, 2011)*. Abstracts. PDF-881.
6. Алешкин А.В., Караулов А.В., Светоч Э.А. и др. Бактериофаги – пробиотические средства регуляции микробиоценозов и деконтаминации микроорганизмами продуктов питания, животных и растений. *Иммунопатол., аллергол, инфектол.* 2013; 3: 80-9.

7. Lakhtin M, Lakhtin V, Aleshkin A et al. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology. In: "Probiotics 2012". Ed. E.C. Rigobelo: 417–32.
8. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М. и др. Новые аспекты патогенности дрожжеподобных грибов и антигрибковые стратегии. Усп. мед. микол. 2013; 11: 25-28.
9. Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Лахтин В.М. и др. Лектины пробиотических бактерий человека препятствуют распространению смешанных микобиопленок «Кандиды + Аспергиллы» микобиоты урогенитального биотопа человека. Усп. мед. микол. 2014; 12: 34-7.
10. Караулов А.В., Лахтин М.В., Алёшкин В.А. и др. Контроль территории кандидами: прогностическая оценка поведения клинических изолятов в присутствии антимикробных факторов. Иммунопатол., алергол, инфектол. 2011; 1: 34-8.

## ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ *CANDIDA ALBICANS*

Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И.  
Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,  
Казань, Россия

**Введение.** В последнее время пересматриваются представления о микроорганизмах как одноклеточных образованиях. Все больше получено данных в пользу того, что они представляют собой целостные «сверхорганизмы», ведущие социальный образ жизни, со сложной многоуровневой социальной организацией, направленной на выживание микроорганизмов в постоянно меняющейся агрессивной среде. Одним из основных факторов, обеспечивающим сохранение вида, являются биопленки. Биопленки образуют как бактерии, так и грибы. Среди грибов особое место *Candida* spp. и, прежде всего, *C. albicans*, на долю которого приходится ведущее место среди возбудителей хронических форм заболеваний. Способность *C. albicans* образовывать биопленки, клинически значима, поскольку связь клеток гриба с биопленкой значительно повышает их устойчивость к традиционным противогрибковым препаратам, действующим на грибы. Зрелые биопленки *C. albicans* представляют собой сеть клеток гриба, гиф и псевдогиф, погруженных в образуемую ими полимерную матрицу, затрудняющую лечение этих инфекционных факторов.

**Цель работы** – определение способности образовывать биопленки различными штаммами *C. albicans*, выделенными со слизистых ротовой полости.

**Материалы и методы.** В работе использованы штаммы *C. albicans*: непатогенный музейный штамм №4, полученный из коллекции музея ЦКВИ (г. Москва), как возможный отрицательный контроль, и штаммы, полученные от больных с хроническими формами орофарингеального кандидоза, а также штаммы, охарактеризованные как клинически незначимые. Биопленки *C. albicans* формировались в течение 48 – 72 ч при температуре 37 °С в ячейках плашек для микротитрования. Процесс формирования биопленок визуализировался с помощью световой и флуоресцентной микроскопии. Кроме того, штаммы *C. albicans* оценивались на два основных фактора патогенности, необходимых для быстрого формирования биопленок – адгезия и диморфизм.

Проведенные исследования штаммов *C. albicans*, показали отличия в степени патогенности. Тестирование адгезивных свойств клинически значимых штаммов грибов показало, значительное (почти в 3 раза) увеличение уровня адгезии, по сравнению с клинически незначимыми штаммами ((45,6±0,12)% и (12,4±1,1)% соответственно).

Максимальный процент герминативных трубок отмечался у штаммов с высоким уровнем адгезии, выделенных из ротовой полости у больных в период обострения хронического заболевания уже через тридцать минут инкубации культуры клеток. В то же время штаммы с низким уровнем адгезии, выделенные из ротовой полости у пациентов в отсутствие клинических признаков инфекции, и музейный штамм, герминативные трубки образовывали только после 2,5 ч инкубации, причем в десять и более раз меньше или в единичном количестве, по сравнению со штаммами, проявляющие высокую адгезивную способность.

Выявлена способность к образованию биопленок клетками *C. albicans* во всех группах. Штаммы, выделенные у больных в период обострения хронического заболевания, образовывали биопленку в 100% случаев. Клинически незначимые штаммы в 40% случаев также формировали биопленку.

Таким образом, подавляющее большинство штаммов грибов образовывали статические биопленки в лунках полистироловых планшетов, независимо от степени проявления патогенных свойств штаммами *C. albicans*.

Полученные данные расширяют представления об арсенале биологических свойств условно патогенных микроорганизмов (грибов), способствующих длительному выживанию на клетках слизистых. Способность грибов *C. albicans* образовывать биопленки указывает на возможность более активной роли грибов в инфекционном процессе.

## ИЗМЕНЕНИЕ РОСТА И ПРОЛИФЕРАЦИИ ДРОЖЖЕЙ РОДА *CANDIDA TROPICALIS* ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА В1

Мартынова Е.А., Иванченко О.Б.

РОНЦ имени Н.Н. Блохина, Москва  
Санкт-Петербургский государственный  
торгово-экономический университет

**Введение.** Дрожжевые грибы *Candida* – это распространенный патоген для человека. Наиболее часто высеваются *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* и *C. crusei* [1]. Исследование дрожжей *C. tropicalis* имеет клиническое значение, так как в последние годы резко возросло число тяжелых соматических заболеваний, осложненных этим патогенном [2]. *C. tropicalis* высеивается при инвазивных кандидозах, после высокодозовой химиотерапии, у истощенных пациентов, при иммунодефицитных состояниях и других тяжелых клинических случаях. У пожилых людей, госпитализированных в клиники Тайваня с диагнозом рак, среди 175 эпизодов кандидоза в 39% случаев выявлена *C. tropicalis*. При этом показана зависимость повышения смертности от наличия осложнений кандидозом [3]. Появились сообщения о роли *C. tropicalis* в развитии тяжелой патологии мозга у новорожденных [4].

Вирулентность *Candida* сопряжена с их способностью формировать биопленки, трудно поддающиеся эрадикации, что обусловлено их структурой, в которой клетки дрожжей встраиваются в формируемый ими экстраклеточный матрикс, покрытый биополимерами [5]. В биопленках возрастает относительный процент сфинголипидов и фосфолипидов по сравнению с планктирующими клетками, также существенно снижается индекс ненасыщенности фосфолипидов [6].

Исследованиями в течение последних двадцати лет была показана роль сфинголипидов во всех основных процессах жизнедеятельности дрожжей *Candida*, в том числе в регуляции деления и гибели клеток. Нокаут гена IPT1 биосинтеза сфинголипидов у дрожжей *Candida* обуславливает нарушение взаимодействия дрожжей с клетками организма хозяина и активацию TLR рецепторов, что препятствует развитию иммунного ответа и противогрибковой защиты организма хозяина [7].

Основными сфинголипидами дрожжей рода *Candida* являются C18 – C20-фитосфингозины, более четверти всех длинноцепочечных оснований представлено сфингозином, содержащим C16:0

жирную кислоту (ЖК). Сфинголипиды являются составной частью липидных рафтов – компартментов плазматической мембраны, регулирующих проведение сигналов внутрь клетки [8]. В рафтах клеток дрожжей находится большое количество фитосфингозина и дегидросфингозина, которые регулируют сигнальные пути клеточной интеграции, эндоцитоза, хемотаксиса, ответа на тепловой шок.

Состав сфинголипидов клеток изменяется в зависимости от фазы клеточного цикла и характера роста клеток в культуре. Основным компонентом сфинголипидов в экспоненциальной (exp-) фазе роста дрожжей *Candida* является С19-фитосфингозин. Содержание церамида у *Candida* в exp-фазе в два раза превышает его концентрацию в стационарной фазе роста, при этом изменяется состав ЖК церамида. В exp-фазе роста *Candida* церамид содержит ЖК с длиной цепи >С20 и высоким уровнем ненасыщенности. В стационарной фазе преобладают ЖК < С20, в основном, С16: 0. Принципиально отличным типом сфинголипида у дрожжей *Candida* по сравнению с клетками высших эукариот является фосфолипоманнан (PLM), происходящий из маннозоинозитол-фосфорил-церамида, липидная часть которого представляет собой фитоцерамид, ассоциированный с С18- или С20-фитосфингозином или С24 жирной кислотой. PLM переносит  $\beta$ -1,2-олиго-маннозиды на поверхность клеточной стенки *Candida albicans*, которые используется как адгезины [9].

Работа посвящена изучению взаимодействия дрожжей *C. tropicalis* с микотоксином фумонизином В1, который является ингибитором коэнзим-А-зависимой церамидсинтазы и обуславливает нарушение биосинтеза церамида de novo, что приводит к накоплению в клетках сфинганина и сфингозина – предшественников биосинтеза церамида. Фумонизины – это вторичные метаболиты плесневых дрожжей рода *Fusarium*.

Структура фумонизинов (19 – 20 °С аминополигидроксикарбок-сильные цепи) позволяет отнести их к сфинголипидам. В настоящее время идентифицировано несколько десятков фумонизинов, среди которых наиболее распространен фумонизин В1 (C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>15</sub>, М 721). Взаимодействие патогенных дрожжей с фумонизином В1 в желудочно-кишечном тракте организма хозяина может оказывать влияние на колонизацию, рост и миграцию дрожжей в ткани.

**Цель работы:** изучение влияния микотоксина фумонизина В1 на рост и пролиферативные способности *Candida tropicalis* при его внесении в разные фазы роста культуры клеток дрожжей.

**Материалы и методы.** Клетки дрожжей выращивали на среде Сабуро, в присутствии фумонизина, добавленного в ростовую среду

одновременно с инокулятом, в качестве которого использовали клетки, взятые в разные фазы роста периодической культуры. В 1-м варианте фузонин в исследуемых концентрациях вносили вместе с клетками в начале логарифмической фазы роста. Во 2-м варианте фузонин в исследуемых концентрациях вносили в инокулят, клетки которого находились в экспоненциальной фазе роста. Клетки культивировали при +37°C. Контролем служили необработанные клетки дрожжей *S. tropicalis*.

Влияние фузонина на рост дрожжей оценивали путем определения количества клеток в камере Горяева в начале эксперимента, через 1, 6 и 24 ч. Для этого в соответствующее время отбирали 0,5 мл экспериментальной суспензии клеток, окрашивали 1%-ным трипановым синим и подсчитали в световом микроскопе в камере Горяева (увеличение х40) количество живых, мертвых и почкующихся клеток. Степень выживаемости (В) культуры, обработанной фузонинином В1, вычисляли по формуле:

$$B = \frac{W(O)}{W(R)} \times 100\%$$

где:

В – степень выживаемости;

W(O) – число колоний в варианте с фузонинином;

W(K) – число колоний в контроле.

Для выяснения влияния фузонина В1 на физиологическое состояние популяции дрожжей изучали кинетику роста штаммов *S. tropicalis* в периодической культуре. Определение динамики роста культуры проводили колориметрическим методом по изменению оптической плотности (D) микробной суспензии на ФЭК-56-ПМ при максимальной длине поглощения светофильтра 590 нм. По 1 мл культуры клеток вносили в 10 мл питательной среды Сабуро, измеряли начальную оптическую плотность суспензии. Клетки инкубировали при 37 °С, оптическую плотность (D) измеряли в динамике. По средним данным четырех опытов строили кривые роста культуры.

Клетки дрожжей далее анализировали на проточном цитометре, предварительно окрасив их ДНК-связующим красителем пропидиум иодидом. Характер роста культуры клеток *S. tropicalis* в зависимости от фазы клеточного цикла по данным проточной цитометрии представлен на рис. 1. На рис. отчетливо различаются пики, соответствующие клеткам различной плотности, что соотносится

с разными фазами клеточного деления. В начале логарифмической фазы роста культуры имеется несколько пиков, тогда как при переходе в экспоненциальную фазу роста число пиков сокращается. Это отражает остановку клеточного деления при достижении определенной плотности популяции.

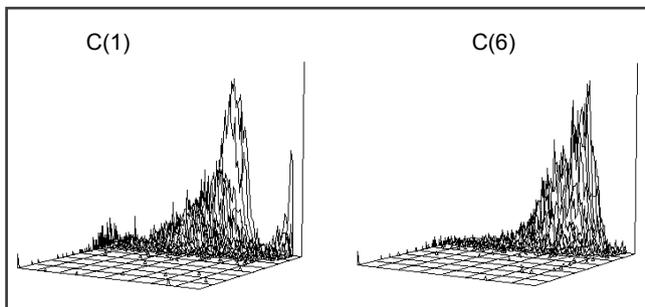


Рис. 1. Характеристика роста культуры клеток *C. tropicalis* в разные фазы клеточного цикла по данным проточной цитометрии:  
C(1) – начало log-фазы, C(6) exp-фаза роста.

С помощью окраски пропидиумом иодидом можно определить плотность ДНК в клетках. В начале log фазы роста *C. tropicalis* плотность ДНК в клетках минимальная. Только 7% клеток из популяции имеют высокое содержание ДНК, при этом интенсивность флуоресценции пропидиума иодида для этой минорной популяции клеток на порядок выше, чем у основного пула клеток. При переходе в exp фазу роста большинство клеток содержат значительное количество ДНК.

При внесении фузонизина в культуру клеток *C. tropicalis* в начале log-фазы удельная скорость роста культуры снижается. Наибольшая степень ингибирования роста отмечается при добавлении фузонизина в концентрации  $10^{-5}$  М. Эта закономерность сохраняется в течение всего времени проведения эксперимента (рис. 2).

При изучении скорости размножения *C. tropicalis* в exp фазе роста (рис. 3) выявлено, что фузонизин в концентрациях  $10^{-3}$  –  $10^5$  М угнетает рост культуры, а в концентрации  $10^{-6}$  М стимулирует удельную скорость роста и количество клеток дрожжей по сравнению с контролем. Наибольший токсичный эффект зарегистрирован для концентрации фузонизина  $10^{-5}$  М. Через 6 ч инкубации клетки *C. tropicalis* адаптируются к действию фузонизина, и удельная скорость роста дрожжей во всех вариантах опыта превышает контроль.

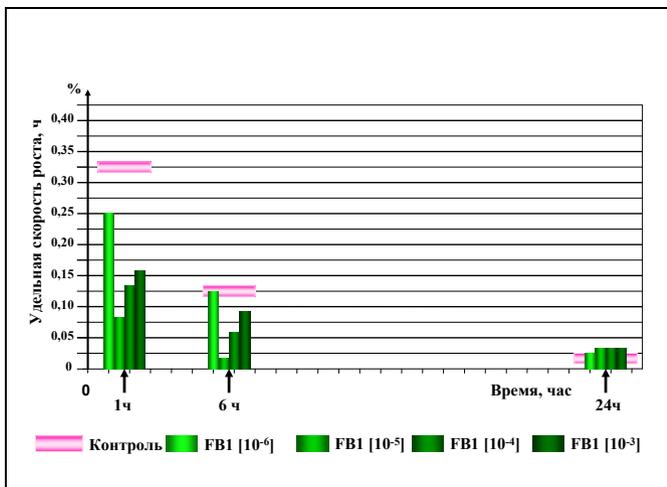


Рис 2. Влияние фузонизина на удельную скорость роста культуры *Candida tropicalis* при внесении в начале логарифмической фазы.

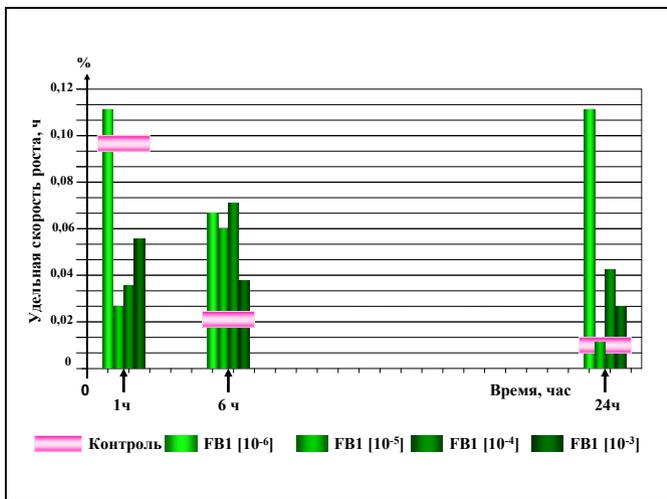


Рис. 3. Влияние фузонизина на удельную скорость роста культуры *Candida tropicalis* при внесении в начале экспоненциально фазы.

Таким образом, обнаружен противоположный эффект фузонизина В1 на рост культуры *C. tropicalis* в зависимости от того, в какой фазе роста произошел контакт токсина с клетками. Данные проточной цитометрии, отражающие особенности распределения клеток в культуре при внесении фузонизина В1 в разные фазы роста *C. tropicalis*, приведены на рис. 4.

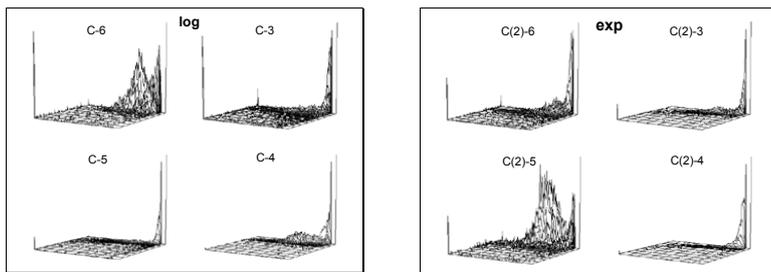


Рисунок 4. Влияние фузонизина, внесенного в начале логарифмической (log) или экспоненциальной (exp) фазы роста, на характер роста культуры клеток *Candida tropicalis* (проточная цитометрия).

C-6 – FB1  $10^{-6}$  М, C-5 – FB1  $10^{-5}$  М      C(2)-6 – FB1  $10^{-6}$  М, C(2)-5 – FB1  $10^{-5}$  М  
C-4 – FB1  $10^{-4}$  М, C-3 – FB1  $10^{-3}$  М      C(2)-4 – FB1  $10^{-4}$  М, C(2)-3 – FB1  $10^{-3}$  М

Фузонизин снижает удельную скорость роста *Candida* в первый час после внесения в начале log-фазы, что коррелирует со снижением числа почкующихся клеток. В концентрации  $10^{-5}$  М фузонизин снижает число почкующихся клеток в течение 6 часов роста. Через 24 ч количество почкующихся клеток в опыте превышает их число в контроле (табл. 1). В exp-фазе роста дрожжей *Candida tropicalis* наиболее токсичной является концентрация фузонизина  $10^{-5}$  М, которая также приводит к снижению числа почкующихся клеток в течение первого часа роста культуры (табл. 2).

Выводы. Фузонизин В1 оказывает влияние на выживаемость, рост и число почкующихся клеток дрожжей рода *Candida tropicalis* в зависимости от дозы микотоксина и физиологического состояния культуры.

Таблица 1. Влияние фузонизина, внесенного в начале log-фазы роста, на количество почкующихся клеток ( $n$ ) *Candida tropicalis*.

[FB1]*	Время инкубации, часы			
	0	1	6	24
	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$
0	19,5±0,1	12,4±0,2	7,9±0,3	0,8±0,05
10 <sup>-3</sup>	19,5±0,1	9,0±0,1	5,8±0,3	1,3±0,03
10 <sup>-4</sup>	19,5±0,1	7,6±0,1	4,6±0,2	1,0±0,02
10 <sup>-5</sup>	19,5±0,1	2,4±0,07	1,2±0,09	1,5±0,02
10 <sup>-6</sup>	19,5±0,1	11,2±0,2	8,6±0,3	1,3±0,04

\*[FB1] – концентрация фузонизина В1;  
 $n \times 10^6$  – количество почкующихся клеток.

Таблица 2. Влияние фузонизина, внесенного в exp-фазе роста, на количество почкующихся клеток ( $n$ ) в культуре *Candida tropicalis*.

[FB1]*	Время инкубации, часы			
	0	1	6	24
	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$	$n \times 10^6$
0	18,5±0,1	2,5±0,1	2,9±0,3	0,9±0,04
10 <sup>-3</sup>	18,5±0,1	1,8±0,2	2,1±0,2	1,0±0,02
10 <sup>-4</sup>	18,5±0,1	1,5±0,1	2,7±0,3	1,1±0,02
10 <sup>-5</sup>	18,5±0,1	1,2±0,1	2,2±0,2	0,9±0,03
10 <sup>-6</sup>	18,5±0,1	2,3±0,2	2,4±0,3	2,4±0,1

\*[FB1] – концентрация фузонизина В1;  
 $n \times 10^6$  – количество почкующихся клеток.

**Список литературы**

1. Tumer S, Butler G. The Candida pathogenic species complex. Cold Spring Harb. Perspect; 2014; 4(9); Pa019778.
2. Bhatt M, Sarangi G, Paty B et al. Biofilm as a virulence marker in Candida species in nosocomial blood stream infection and its correlation with antifungal resistance. Indian J Med Microbiol; 2015(33, Suppl) : S112-S114.
3. Tang HJ, Liu WL, Lin HL, Lai CC. Epidemiology and prognostic factors of candidemia in elderly patients. Geriatr Gerontol. 2014; 26. Doi: 10.1111/ggi.12329
4. Yoganathan S, Chakrabarty B, Culati S et al. Candida tropicalis brain abscess in a neonate: An emerging nosocomial menace. Ann Indian Acad Neurol. 2014; 17(4): 448-50.
5. Zamowski R, Westler W, Lacmbouh G. et al. Novel entries in a fungal biofilm matrix encyclopedia. MBio. 2014; 5(4); Pe01333-14.
6. Lattif A, Mukherjee P, Chandra J et al. Lipidomics of Candida albicans biofilm reveals phase-dependent production of phospholipid molecular classes and role for lipid rafts in biofilm formation. Microbiology. 2011; 157(Pt 11): 3232-42.
7. Rouabhia M, Mukherjee P, Lattif A et al. Disruption of sphingolipid biosynthetic gene IPT1 reduces Candida albicans adhesion and prevents activation of human gingival epithelial cell innate immune defense. Med Mycol. 2011; 49(5): 458-66.
8. Mollinedo F. Lipid raft involvement in yeast cell growth and death. Front Oncol. 2012; 2: 140.
9. Trinel P, Maes E, Zanetta J et al. Candida albicans phospholipomannan, a new member of the fungal mannose inositol phosphoceramide family. J Biol Chem. 2002; 277; 37260-71.

## ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВА ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* НА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОЛОСТИ РТА У ДЕТЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЛЕЧЕНИИ СЪЕМНЫМИ ОРТОДОНТИЧЕСКИМИ АППАРАТАМИ

*Морев С.И., Гарасько Е.В.*

*Ивановская государственная медицинская академия*

Распространенность нарушений развития зубочелюстной системы у детей, по данным ВОЗ, в среднем составляет 50%. В зависимости от состояния микробиоценоза, резидентная микрофлора полости рта функционально может выступать в роли стабилизирующей или агрессивной. Агрессивная микрофлора, в том числе *Candida* при определенных условиях, является возбудителем большой группы инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта.

Известно, что у взрослых в 100% случаев, при наличии в ротовой полости стоматологических конструкций (протезы, коронки, пломбы и др.) при микробиологическом исследовании всегда выявляется дисбактериоз. Особенно часто сдвиг происходит в сторону увеличения количества грибов рода *Candida*. Проблема дисбиоза полости рта у детей мало изучена. Ортодонтические конструкции в полости рта ухудшают ее гигиеническое состояние, служат дополнительными ретенционными пунктами для адгезии и накопления микроорганизмов. Специальная гигиена полости рта для детей с зубочелюстными аномалиями и деформациями оказывает заметное влияние на нормализацию микрофлоры полости рта.

Оценивали влияние различных средств гигиены на микрофлору полости рта у детей в возрасте от 6 до 12 лет без системных хронических заболеваний, находящихся на лечении съемными ортодонтическими аппаратами, с акцентом на количественный учет грибов рода кандиды, качественный и количественный учет стрептококков и стафилококков. Исследование проводили в течение 2-х нед у двух групп пациентов: 1-я группа – с ортодонтическими съемными аппаратами; 2-я группа – без ортодонтических конструкций.

Материал для исследования отбирали со слизистой оболочки, к которой прилегает базис аппарата. Проводили микроскопическое и бактериологическое исследование материала.

Получена достаточно высокая информативность микроскопического метода исследования с окраской препаратов по Граму,

что подтвердили результаты бактериологического исследования, в особенности по выявлению грибов рода *Candida* в данном биотопе.

Показатели	1 группа	2 группа	1 группа после использования пасты с бромелаином
Уровень гигиены полости рта по Грин-Вермиллиону, ср. знач.	1,9	1,3	0,9
<i>Candida</i> на среде Сабуро	Обильное обсеменение	Единичные колонии (3-5 КОЕ)	Единичные колонии (до 10 КОЕ)
<i>Candida</i> на кровяном агаре	Обильное обсеменение	Единичные колонии (3-5 КОЕ)	Единичные колонии (до 10 КОЕ)
<i>Staphylococcus</i> и <i>Streptococcus</i> при окраске по Граму	Обильное обсеменение	Незначит. количество	Незначит. количество

У детей, находящихся на лечении съёмными аппаратами, происходит заметный сдвиг количества *Candida*, а также стафилококков и стрептококков в сторону увеличения. Изучение динамики изменения микрофлоры слизистой оболочки выявило позитивное влияние зубной пасты с ферментом бромелаином и ксилитом на количественный состав нормальной микрофлоры. Полученные в ходе исследования результаты согласуются с известными данными, что бромелаин расщепляет белковые компоненты зубного налета и способствует удалению микрофлоры с поверхности зубов.

## АДГЕЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ КАНДИД К БУККАЛЬНОМУ И ВАГИНАЛЬНОМУ ЭПИТЕЛИУ ПО СРАВНЕНИЮ С МУЗЕЙНЫМ ШТАММОМ

Сачивкина Н.П., Гирич В.С.

Российский университет дружбы народов, Москва

Адгезия *Candida albicans* на эпителиоцитах является первым и обязательным шагом развития заболевания. При этом, на реализацию этого этапа в системе «кандиды – эпителиоциты» могут оказывать влияние многие факторы, как со стороны ДПП, так и со стороны организма хозяина [1, 2].

Большинство исследований сосредоточено на адгезии именно клинических штаммов кандид к оральным и вагинальным поверхностным клеткам [3]. Для нас представлял интерес исследовать адгезию ДПП, которые были лиофилизированны и хранились в музее, и сопоставить её значения с таковыми у клинических штаммов.

Цель – выяснить, отличается ли адгезивность клинических *Candida albicans* к буккальным и вагинальным эпителиоцитам по сравнению с музейным штаммом.

**Материалы и методы исследования.** В исследование были включены 3 культуры *C. albicans*, полученные от женщин, больных вагинальным кандидозом и 1 музейный штамм *C. albicans* ATCC 10231 (ФГУП «ГосНИИГенетика» г. Москва). Все микроорганизмы культивировали в жидкой питательной среде Сабуро. Известно, что успешность адгезии (с последующей колонизацией слизистых поверхностей человека) зависит от множества параметров, включая и физиологические. Поэтому, адгезия проводилась с созданием следующих условий: температура 37 °С, рН среды 4,5. Эпителиоциты влагалища (ВЭ), получали от клинически здоровой женщины 30 лет на 10- – 18-й день менструального цикла. А эпителиальные клетки ротовой полости (буккальные эпителиоциты--БЭ) от здорового мужчины 24 лет. Письменные согласия доноров были получены.

Эпителиоциты смывали 5 мл ЗФР с ватно-марлевого тампона, затем трижды промывали ЗФР рН 7,2 путём центрифугирования 1000 об/мин в течение трёх минут. Полученную взвесь клеток тестировали в камере Горяева. С целью определения индекса адгезии (ИА) смешивали равные объёмы ВЭ и ДПП при соотношении клеток 1:100 соответственно. Пробирки инкубировали в термостате с шейкером 1 час при 37 °С. После инкубации клетки трижды отмывали ЗФР и центрифугировали 2 мин при 1000 об/мин. Из отмытого осадка

готовили мазки, которые окрашивали метиленовой синью. В 50 полях зрения подсчитывали эпителиоциты, на которых адгезировались ДПГ. Подсчитывали индекс адгезии – среднее количество адгезированных ДПГ в пересчете на один эпителиоцит. Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя критерий Стьюдента.

**Результаты.** Сравнение индексов адгезии клинических и музейных изолятов грибов рода *Candida* к вагинальному эпителию показало наличие достоверно более низкого показателя у музейной культуры по отношению к клиническим штаммам ( $p < 0,05$ ). А именно значение адгезивного индекса всех 3 клинических штаммов ДПГ в среднем составило  $4,0 \pm 0,4$  и было существенно выше этого показателя у кандиды музейной, ИА которой был на уровне  $3,5 \pm 0,1$ .

	Клинические штаммы ДПГ	Музейная культура ДПГ
БЭ	$2,8 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,2$
ВЭ	$4,2 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,1$

**Выводы.** Проведенные исследования показали наличие фенотипических вариаций грибов рода *Candida* в зависимости от источника, способа хранения и времени. Анализ адгезивной способности клинических и музейных культур кандид к эпителиальным клеткам показал, что вагинальные изоляты имеют высокий индекс адгезии, нежели другие.

Однако сравнение индексов адгезии к различному эпителию показало наличие более высокого показателя к вагинальным клеткам в сравнении с оральными. В то же время, адгезия клинических изолятов и музейной культуры к БЭ достоверно не различалась.

### Список литературы

1. Wellmer A, Bernhardt H. Adherence on buccal epithelial cells and germ tube formation in the continuous flow culture of clinical *Candida albicans* isolates. *Mycoses* 1997; 40: 363-8.
2. Sturtevant J, Calderone R. *Candida albicans* adhesins: Biochemical aspects and virulence. *Rev Iberoam Micol.* 1997; 14: 90-7.
3. Murphy AR, Kavanagh KA. Adherence of clinical isolates of *Saccharomyces cerevisiae* to buccal epithelial cells. *Med Mycol* 2001; 39 (1): 123-27.

## ОСОБЕННОСТИ ГЕНОМА ПАТОГЕННОГО ГРИБА *CANDIDA GLABRATA*

Садвакас А.С.

Казахский национальный медицинский университет  
им. С.Д. Асфендиярова, Алма-Ата

Род *Candida* относится к митоспоровым грибам, часть которых размножается бесполом путем и называется анаморфами, а другая имеет половой характер размножения и называется телеоморфами. По характеру размножения грибы рода *Candida* классифицируются на *Ascomycetes* и *Basidiomycetes* (Barnett et al. 1983). Телеоморфные формы роста были описаны для 10 видов грибов *Candida* за исключением одного вида – *Candida glabrata*, проявляющего исключительно псевдогифальный характер размножения с образованием ветвящихся цепочек или псевдогиф в период азотного голодания (Csanik and Haynes 2000). Среди остальных видов кандид *C. glabrata* является гаплоидом и ранее был известен как *Torulopsis glabrata*. До недавнего времени *C. glabrata* считался непатогенным микроорганизмом. Однако при состояниях патологической иммунологической резистентности, особенно у ВИЧ-инфицированных и пожилых людей, все чаще возбудителем оппортунистических микозов становится *C. glabrata*.

Морфологические признаки и функциональные особенности *C. glabrata* эволюционировали в результате изменяющихся условий среды обитания. На основании скрупулезных исследований гомологии последовательностей 18S рРНК было сделано заключение об эволюционной и филогенетической близости вида *C. glabrata* к другому виду дрожжей – *Saccharomyces cerevisiae*. Филогенетическое дерево наиболее известных видов грибов представлено на рис. 1.

Оппортунистическая патогенность *C. glabrata*, как было отмечено в начале XXI века, связана с эволюционной регрессивностью 29 генов, участвующих в метаболизме галактозы, серы, фосфата, азота (Dujon et al. 2004). Согласно геномной базе данных, геном *C. glabrata* не содержит гомологов следующих генов: GAL1, GAL3, GAL7, GAL10, GAL80, SUC2, HEX2, MEL1, присутствующих в *S. cerevisiae*.

Геном *C. glabrata* представлен 13 хромосомами, общий размер которых составляет приблизительно 12 Мб и показан на рисунке 2. Каждая хромосома *C. glabrata* содержит гены, одну центромеру (CEN) в субтермальном или термальном регионе, теломеры (TEL) и автономные репликативные последовательности (ARS –

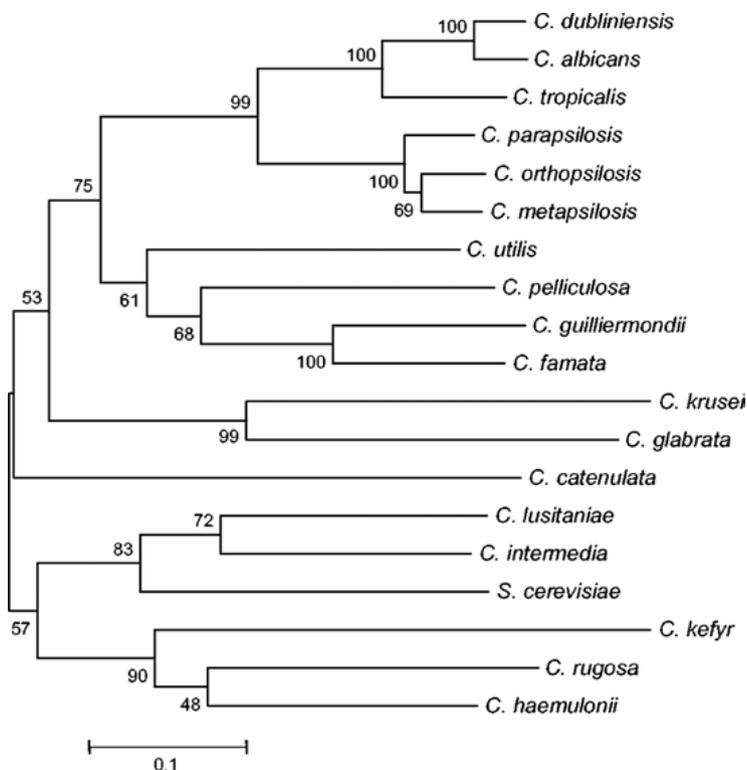


Рис. 1. Филогенетическое древо на основании анализа геномной последовательности (Sherman et al., 2004)

autonomously replicating sequences), сохранившиеся эволюционно. Репликация теломеров контролируется белком Rap1p, который был изолирован дополнительным образованием rap1 в мутантной линии *S. cerevisiae*. Гомология между ScRap1p и CgRap1p была зафиксирована в диапазоне 65–78%. Кроме того, относительно высокая гомология была обнаружена между последовательностями теломер CgTEL: 5'-CTG TGG GGT GTG GGT G-5', ScTEL: 5'-TGG TGT GTG GGT G-3' (полуужирным выделены связывающие сайты для Rap1p у *S. cerevisiae* и *C. glabrata*), появившихся у обоих разновидностей грибов в процессе эволюции (Cohn et al. 1998, Haw et al. 2001).

Размер хромосомы  
в мегабайтах

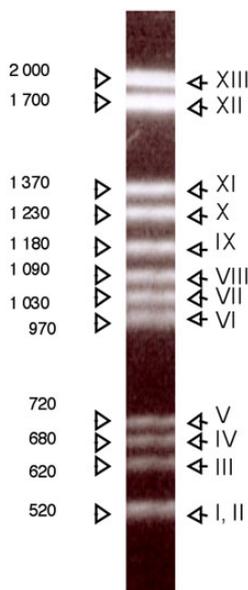


Рис. 2. Геном гриба *C. glabrata* (Bouchier et al. 2009)

Некоторые различия в геноме были также обнаружены в гомологиях между центромерами. Однако центромера *C. glabrata* не функционирует в мутациях у *S. cerevisiae* (Kitada et al. 1997). Три элемента *S. cerevisiae* были раскрыты и сравнены, как важные для функционирования центромер: ScCDEI-CgCDEI, ScCDEII-CgCDEII, ScCDEIII-CgCDEIII. Сравнительный анализ проводился при помощи сконструированных химерических центромеров по определенной функциональности видоспецифичных элементов CgCDEII и CgCDEIII (Kitada et al. 1996, 1997). Элементы изученных последовательностей нуклеотидов указаны в табл. 1.

По сравнению с *S. cerevisiae* и *C. albicans*, которые ассимилируют большое количество сахаров, *C. glabrata* ассимилирует только глюкозу и трегалозу (Hazen 1995). Метаболизм трегалозы важен не только для энергетических процессов, но и играет существенную роль при таких стрессовых состояниях, как голодание, изменение осмотического давления и тепловой шок (Attfield 1987, Mackenzie et al. 1988). Кроме того, было отмечено, что делеция гена CgSNF1, ответственного за брожение и дыхание у *S. cerevisiae*, приводит к выключению процессов ассимиляции трегалозы у *C. glabrata* (Petter & Kwon-Chung, 1996).

Таблица 1. Три элемента центромеры *C. glabrata* (Kitada et al. 1996)

Элемент	Число пар	Последовательность оснований
CgCDEI	8	(G/A) TCAC (G/A) TG
CgCDEII	78 – 86	AT каждого региона
CgCDEIII	26	TGT(T/A) T(T/A) TG(T/A) TTTCCGAA(A/C) (T/A) (T/A) (T/A) AAAA

Автономные репликативные последовательности (ARS) у *S. cerevisiae* в АТ-богатом регионе хромосомы имеют одну или множество копий последовательностей 5'-(A/T) TTTAT (A/G) TTT (A/T)-3' (Newlon 1988). По сравнению с *S. cerevisiae* у *C. glabrata* только один изолированный АТ-богатый регион связан с автономной репликативной последовательностью, образовавшейся в результате близости гена МТ-IIa ( Mehra et al. 1992).

Митохондриальный геном *C. glabrata* является наименьшим среди остальных видов рода *Candida* и имеет размер около 19–20 кб (Shu and Martin 1991; Koszul et al. 2003). Митохондриальная ДНК содержит 8 кодирующих генов: COB (для апоцитохрома b); АТР6, АТР8, АТР9 (для 3-х единиц АТФ-синтазы); COX1, COX2, COX3 ( для 3-х единиц цитохром-с-оксидазы) и VAR1 (для рибосомного белка). Были также определены РНК-кодирующие гены: 23 тРНК кодирующих генов, рРНК для малой (SSU) и большой (LSU) субъединиц митохондриальной рибосомы и РНК для митохондриальной РНКазы (Shu and Martin 1991). Ген COX1, обнаруженный в открытой рамке считывания, содержит всего 3 интрона: CgCOX1.1, CgCOX1.2, CgCOX1.3. По сравнению с другими видами рода *Candida* митохондриальная ДНК *C. glabrata* не содержит гены для НАДН-оксиредуктазы (Clark-Walker& Sriprakash 1983).

**Вывод.** Псевдогифальный характер роста *C. glabrata* был обусловлен адаптационными процессами к окружающей среде, приведшими к потере определенных метаболических функций в результате регрессивного изменения самого генома. Именно эти процессы и должны лежать в основе оппортунистической патогенности гриба *C. glabrata*.

### Список литературы

1. Bialkov A, Subik J. Biology of the pathogenic yeast *Candida glabrata*. *Folia Micribiol.* 2006; 51(1): 3-20.
2. Дьяков Ю.Т., Шнырева А.В., Сергеев А.Ю. Введение в генетику грибов. М.: Academia: 2005.
3. Sherman DJ, Martin T, Nikolski M, Cayla C, Souciet JL, Durrens P; Genolevures Consortium (2009). Genolevures: protein families and synteny among complete hemiascomycetous yeast proteomes and genomes. *Nucl Acids Res.* 37 (Database issue): D550-4.

## ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВАГИНАЛЬНОМ КАНДИДОЗЕ

*Снимщикова И.А., Шманева И.А., Ильина О.В.,  
Плотникова М.О.*

*Орловский государственный университет*

**Введение.** За последнее десятилетие большую клиническую и социально-экономическую значимость приобрела проблема вагинального кандидоза, а также смешанных бактериально-грибковых инфекций влагалища и вульвы, которые, по данным различных авторов, регистрируются у 45–75% женщин репродуктивного возраста.

Убедительно доказано, что генитальный кандидоз является одной из частых причин нарушения репродуктивной функции и качества жизни женщин, а также этиологическим фактором ante- и интранатального инфицирования плода [1].

Известно, что важную роль в хронизации кандидозной инфекции генитального тракта играет нарушение местной антиинфекционной защиты влагалища и системного иммунитета [1, 2]. Вместе с тем закономерности дисрегуляции компонентов врождённого и адаптивного иммунитета при монокандидозном и кандидо-бактериальном поражении генитального тракта изучены недостаточно, а механизмы формирования локального иммунодефицита при данной патологии на фоне хронических воспалительных заболеваний органов малого таза нуждаются в уточнении.

**Цель работы** – провести исследование параметров врождённого иммунитета у женщин с различными формами генитального кандидоза на фоне хронических воспалительных заболеваний органов малого таза.

**Материалы и методы исследования.** Для оценки показателей врождённого иммунитета был проведен иммунологический анализ крови и вагинальных смывов 167 пациенток с различными формами кандидозного вульвовагинита на фоне хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ), находящихся на лечении в гинекологическом отделении ОГУЗ «Орловская областная клиническая больница» и МЛПУЗ «Родильный дом г. Орла».

Пациенткам было проведено иммунологическое обследование: изучение фенотипа мононуклеарных клеток крови, уровня оксида азота, антимикробного пептида LL-37/hCAP18 в сыворотке крови и вагинальных смывах.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) выделяли с использованием метода дифференциального центрифугирования в градиенте плотности фиколл-верографин (Фримель Г., 1980). Вагинальные смывы (ВС) получали путём активной аспирации предварительно введённого физиологического раствора, а затем центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об./мин.

Содержание оксида азота (NO) в пробах оценивали спектрофотометрически по суммарной концентрации нитратов и нитритов с помощью реактива Грисса. Определение уровня кателицидина LL-37/hCAP18 проводили методом ИФА с использованием тест-систем Hbt (Нидерланды). Фенотип клеток определяли непрямым иммунопероксидазным методом с использованием моноклональных антител Hbt (Нидерланды).

Для определения иммунологических показателей, принимаемых за физиологическую норму, были обследованы 20 здоровых женщин репродуктивного возраста (средний возраст  $35,1 \pm 0,7$  лет). Иммунологические исследования проводились на кафедре иммунологии и специализированных клинических дисциплин медицинского института ОГУ.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью Microsoft Excel на компьютере «Pentium IV». Исследования корреляционной взаимосвязи между показателями выполнялись по Пирсону.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По современным представлениям одним из ключевых звеньев патогенеза хронических инфекционно-воспалительных заболеваний генитального тракта является развитие иммунной дисфункции, приводящей к снижению адаптационных резервов женского организма [3]. При этом хроническая кандидозная инфекция позиционируется как маркёр нарушения иммунного гомеостаза. Изучению адаптивного иммунитета и дисрегуляции механизмов защиты слизистых генитального тракта при инфекционно-воспалительных заболеваниях половых органов посвящены многочисленные исследования последних лет [1, 2, 3]. Вместе с тем недостаточно изучены при генитальном кандидозе на фоне хронических воспалительных заболеваний органов малого таза механизмы врождённого иммунитета, представляющие первую линию защиты от различных патогенов.

В последние годы установлено, что среди факторов врождённого иммунитета важное место занимают противомикробные пептиды (ПМП), которые обеспечивая «мгновенный иммунитет» («instant immunity») [3]. Кателицидины относятся к семейству катионных

противомикробных пептидов, а LL37/hCAP18 является единственным идентифицированным человеческим кателицидином, проявляющим плейотропное антимикробное и иммунорегуляторное действие. Изучение уровня LL37/hCAP18 в вагинальном смыве и сыворотке крови больных генитальным кандидозом на фоне хронических ВЗОМТ показало значительное снижение его концентрации, выраженность которого сочеталась с неблагоприятным течением патологического процесса (рис. 1).

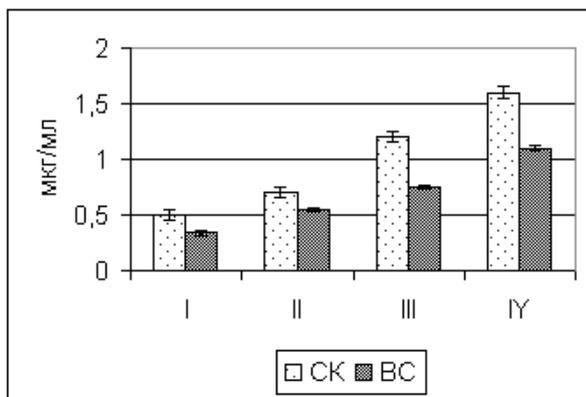


Рисунок 1. Уровень LL37 в сыворотке крови и вагинальных смывах здоровых и больных ВВК на фоне хронических ВЗОМТ\*.

При этом у больных хроническими ВЗОМТ при отсутствии клинико-лабораторных признаков вульвовагинита уровень изучаемого ПМП в биологических жидкостях был выше (в 1,5 – 2 раза). Значительный интерес в этой связи представляют полученные нами данные о более выраженном снижении продукции LL37/hCAP18 при монокандидозном вульвовагините, чем при микст-форме инфекции на фоне хронических ВЗОМТ, что, вероятно, может быть обусловлено различными сигнальными путями активации продукции ПМП под действием патогенов.

\*Примечание: СК – сыворотка крови; ВС – вагинальный смыв; здесь и на рис. 2, 3, I – показатели больных ВВК (моно-форма) на фоне хронических ВЗОМТ; II – показатели больных ВВК (микст-форма) на фоне хронических ВЗОМТ; III – показатели больных хроническими ВЗОМТ; IV – показатели здоровых женщин; для рис. 1–2:  $p < 0,01$  между показателями больных и здоровых женщин;  $p < 0,05$  между показателями I и III, II и III.

На сегодняшний день достаточно полно охарактеризованы пути передачи сигналов через рецепторы, распознающие «патоген-ассоциированные молекулярные образы» (PRR – pattern-recognition receptors), и выполняющие интегрирующую функцию между врождённой и адаптивной иммунной системой [4]. Среди PRR Toll-подобные рецепторы рассматриваются как ключевые, опосредующие реализацию врождённого иммунитета к микробным патогенам. Наиболее широким спектром специфичности среди всех идентифицированных TLR обладает TLR2, в связи с этим представляло интерес изучить уровень экспрессии TLR2 клетками вагинального содержимого и МНК здоровых лиц и больных.

Результаты проведённых исследований показали, что у всех женщин с генитальным кандидозом, как при моно-, так и микст-форме инфекции, определялся более высокий уровень экспрессии TLR2 клетками по сравнению со здоровыми донорами, а также больными ВЗОМТ (рис. 2).

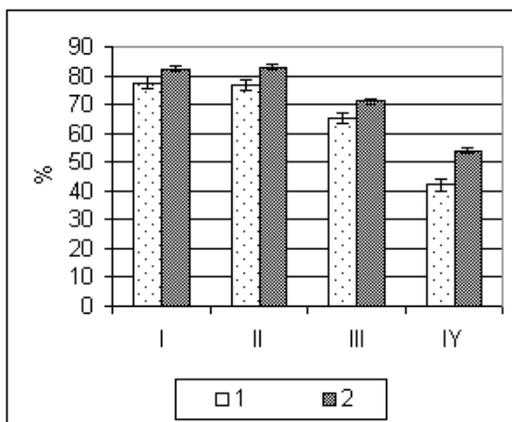


Рис. 2. Показатели числа TLR2+ МНК (1) и клетками ВС (2) здоровых\* (См. прим на пред стр.)

Вместе с тем, наряду с повышенными фоновыми показателями экспрессии TLR2 МНК крови большинства больных (68,6%) кандидозным вульвовагинитом на фоне хронических ВЗОМТ, у 14,6% пациентов регистрировался низкий уровень экспрессии TLR2, у 16,8% – значения числа клеток, соответствующие показателям здоровых лиц. При сравнении числа TLR2<sup>+</sup> клеток в вагинальном смыве

и среди МНК крови установлено, что показатели экспрессии TLR2<sup>+</sup> были выше на клетках ВС (в среднем на 15 – 30%), что, вероятно, связано с повышенной концентрацией микробных ассоциаций в генитальном тракте. Следует отметить, что у больных с непрерывно рецидивирующим течением ВВК регистрировались более высокие показатели количества TLR2<sup>+</sup>-клеток (85–88%).

В ответ на активацию TLR2 агонистами повышается продукция оксида азота, одной из адапторных молекул, обладающих выраженным кандидостатическим действием [4]. В связи с этим представляло интерес исследовать уровень метаболитов NO в сыворотке крови, а также вагинальном смыве больных ВВК на фоне хронических ВЗОМТ. Анализ результатов показал, что фоновые показатели уровня NO в сыворотке крови женщин с генитальным кандидозом были значительно выше, чем у здоровых лиц ( $3,3 \pm 0,4$  мкмоль/л), и достоверно не различались с данными больных хроническими ВЗОМТ без кандидозной вульвоинфекции ( $5,7 \pm 0,6$  и  $5,4 \pm 0,3$  мкмоль/л $\pm$  соответственно). При этом уровень интравагинального NO был значительно ниже у женщин с хроническим рецидивирующим ВВК на фоне ВЗОМТ, чем при хронических ВЗОМТ некандидозной этиологии (рис. 3), но выше, чем у здоровых женщин, что, вероятно, обусловлено повышенной «востребованностью» NO для элиминации патогенов.

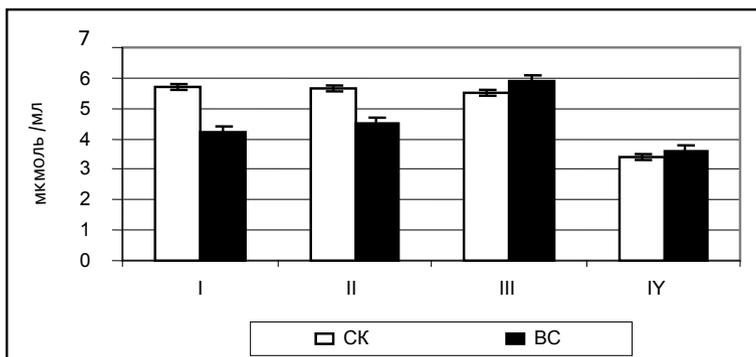


Рис. 3. Уровень NO в сыворотке крови и вагинальных смывах здоровых и больных ВВК на фоне хронических ВЗОМТ.

Примечание:  $p < 0,05$  между показателями больных и здоровых женщин;  $p < 0,05$  между показателями ВС I и III, II и III.

**Выводы.** Результаты проведенных исследований свидетельствуют о важной роли компонентов системного и локального врожденного иммунитета в формировании иммунной дисфункции при кандидозном вульвовагините на фоне хронических ВЗОМТ, что обосновывает возможность их определения в качестве маркеров тяжести течения данной патологии.

### **Список литературы**

1. Арзуманян В.Г., Мальбахова Е.Т., Комиссарова Л.М., Сердюк О.А., Касабулатов Н.М. Местный противогрибковый иммунитет при вульвовагинальном кандидозе у беременных. Акуш. гинекол. 2008, № 6: 23-26.
2. Снимщикова И.А., Халилов М.А., Лялюхина Е.И., Ильина О.В. Перспективы топической иммунокоррекции при кандиозных поражениях кожи и слизистых. Вестн. Росс. гос. мед. унив. 2008, 4(63): 50.
3. Снимщикова И.А., Халилов М.А., Плотникова М.О. Роль эндогенных антимикробных пептидов при инфекционно-воспалительных процессах. Российский иммунологический журнал, 2014, том 8 (17), № 3, с. 401-404.
4. Netea MG, van der Meer JWM. Immunodeficiency and genetic defects of pattern-recognition receptors. N Engl J Med 2011; 364: 60-70.

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО АРИЛАЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОСПИРТОВ НА ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ *S. ALBICANS*

Суворова З.С.<sup>1</sup>, Врынчану Н.А.<sup>1</sup>, Гриневич С.В.<sup>1</sup>,  
Короткий Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт органической химии НАНУ, Киев

Несмотря на наличие в клинической практике достаточного количества антифунгальных средств, проблема профилактики и лечения микозов в полной мере не решена. Одна из основных причин – формирование резистентности у грибов. На особое внимание заслуживают и биопленочные формы микроорганизмов, которые характеризуются выраженной устойчивостью к антифунгальным средствам (Douglas LJ, 2003).

Современные официальные препараты оказывают ингибирующее действие на рост и размножение грибов в токсичных для человека дозах. Все вышеизложенное свидетельствует о необходимость разработки новых антифунгальных средств, которые могли бы разрушать сформированные биопленки, а также препятствовать их формированию на биотических и абиотических поверхностях.

Внимания заслуживают арилалифатические аминокислоты, которые обладают выраженным антигрибковым и антибактериальным действием (Врынчану Н.А., Дронова М.Л. и др., 2015).

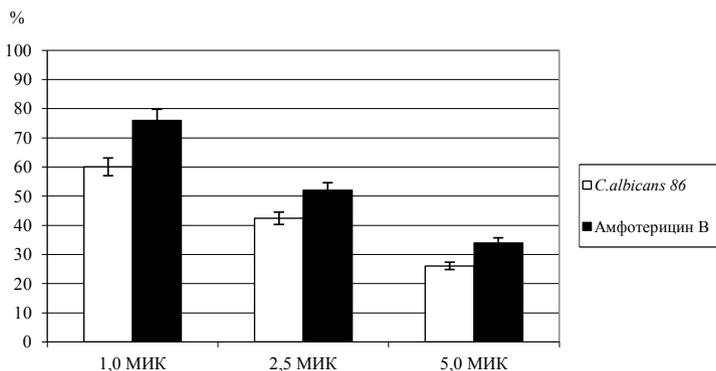
**Цель** – изучить способность производного арилалифатических аминокислот КВМ-177 предотвращать формирование биопленок *S. albicans*.

**Материалы и методы.** Антифунгальные свойства соединения КВМ-177 исследовали в отношении планктонных грибов *S. albicans*, а также биопленочных форм микроорганизмов. Эксперименты проведены и использованием клинических штаммов грибов: *S. albicans* 5, *S. albicans* 86, *S. albicans* 404, *S. albicans* 1486 и *S. albicans* 1659. Антифунгальную активность соединения КВМ-177 оценивали по показателю МИК и по способности предотвращать формирование биопленки на абиотической поверхности. МИК устанавливали методом микроразведений в жидкой питательной среде Сабуро. Плотность инокулята составляла 10<sup>5</sup> грибных элементов на 1,0 мл питательной среды.

Исследуемый материал инкубировали в термостате при 32 °С в течение 48 ч. Способность производного арилалифатических ами-

носпиртов нарушать формирование биопленки дрожжеподобным грибом *C. albicans* 86 изучали в пластиковых 96 луночных планшетах для иммуноферментного анализа (Романова Ю.М. и соавт., 2006). Плотность инокулята составляла 106 грибных элементов на 1,0 мл. Препаратом сравнения служил амфотерицин В (лиофилизат для приготовления раствора для инфузий, ВАТ «Синтез», Россия). Концентрации соединения и препарата сравнения составляли: 1,0 МИК, 2,5 МИК и 5,0 МИК. В работе использован микробиологический анализатор Absorbance Microplate Reader ELx800 (BioTeK, США), длина волны 630 нм.

**Результаты.** Проведенные исследования показали, что МИК соединения КВМ-177 в отношении планктонных штаммов дрожжеподобных грибов составляет: *C. albicans* 5 – > 20,0 мкг/мл, *C. albicans* 86 – 6,25 мкг/мл, *C. albicans* 404 – 12,5 мкг/мл, *C. albicans* 1486 – 3,12 мкг/мл, *C. albicans* 1659 – 12,5 мкг/мл. Экспериментально установлено, что соединение влияет и на образование биопленок *C. albicans*.



Влияние производного арилатифатических аминспиртов КВМ-177 на пленкообразование *C. albicans* 86.

В концентрации 1,0 МИК соединение КВМ-177 ингибирует пленкообразование на 40,0%, в концентрации 2,5 МИК – 57,5%, 5,0 МИК – 73,9%. За выраженностью ингибирующей активности производное арилатифатических аминспиртов имеет преимущество перед препаратом сравнения амфотерицином В, ингибирующая активность которого составляет при 1,0 МИК – 24,0%, 2,5 МИК – 48,0%, 5,0 МИК – 66,0%, в сравнении с контролем.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ TLRs ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИГЕНОВ *CANDIDA ALBICANS* IN VITRO

Свитич О.А., Блинкова Л.П., Лабжинов П.А.,  
Ганковская Л.В., Зверев В.В.

НИИВС имени И.И. Мечникова, Москва  
РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва

**Введение.** Кандидозы являются актуальной проблемой современной медицины, поскольку часто возникают у недоношенных новорожденных, а также у ослабленных детей раннего возраста. Среди взрослых, наиболее уязвимыми для кандидозов, являются ВИЧ-инфицированные лица, онкологические и гематологические больные, пациенты после трансплантации органов и др. Кроме того, кандидозная инфекция может возникать в результате подавления нормальной микрофлоры кишечника и развития вторичного иммунодефицита, вследствие длительного и бессистемного применения антибиотиков. В патогенезе болезни важную роль играют сенсibiliзирующие свойства дрожжевых грибов *Candida* и продуктов их метаболизма, которые способны нарушать иммунный ответ организма.

**Цель работы** – изучение уровней экспрессии генов сигнальных рецептором врожденного иммунитета – Toll-подобных рецепторов (TLR3, TLR7 и TLR9) в культурах клеток после воздействия антигенов *C. albicans*.

**Материалы и методы.** Инактивированные образцы *C. albicans* были любезно предоставлены заведующей лабораторией микробиологических питательных сред д.б.н., профессором Л.П. Блинковой (ФГБНУ «НИИ ВС им. И.И. Мечникова»). В работе эксперименты проводились на культуре клеток Vero (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург) и культуре клеток U937 (которая была любезно предоставлена к.б.н. Т.М. Парфеновой, ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи, РАМН). Выделение РНК проводили с использованием набора “Рибо-сорб” (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, АмплиСенс, РФ). Полученные образцы нуклеиновых кислот хранили при температуре минус 70 °С. Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили следующим образом: реакционная смесь при синтезе кДНК (общий объем 25 мкл) содержала четыре основных dNTP (Синтол, РФ) в концентрации 1мМ каждого, 10 нмоль random- гексамеров

(Синтол, РФ), 10 нмолей праймера-затравки (Синтол, РФ), матрицу и 100 ед. ревертазы M-MLV (Синтол, РФ). При составлении реакционной смеси использовали 5x буфер для обратной транскрипции. Полученную кДНК хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Праймеры и зонды для полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) были смоделированы в компьютерной программе Vector NTI 8,0 в соответствии с последовательностями мРНК исследуемых генов (последовательности мРНК были взяты из базы GenBank) и синтезированы сотрудниками фирмы Синтол (РФ).

Для приготовления ПЦР-смеси в реакциях использовали набор «Набор реактивов для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I (Буфер Б)» (Синтол, РФ). Эксперименты проводили в 96-луночных планшетах, в которые вносили взвесь клеточных культур и инкубировали при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  в течение суток, затем в лунки планшета вносились известные концентрации лигандов (0,1, 10, 100 г и 1000 мкг на лунку). Планшет ставился в инкубатор при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  и в контрольные точки через 1, 3, 12 ч и сутки клеточный монослой лизировали и изучали на наличие мРНК исследуемых генов. Эксперимент проводился в минимум трех повторах, воспроизведение некоторых экспериментов осуществлялось до пяти раз.

**Результаты и обсуждение.** В результате получены данные об изменении уровней экспрессии генов рецепторов TLR3, TLR7, TLR9 и эффекторных молекул (ИФН- $\beta$  бета и ФНО- $\alpha$ ) в динамике. Общие закономерности следующие: эффект проявлялся в 1-й час с момента добавления лиганда в культуру (таблица). Позже, чем через 3 ч достоверных отличий в показателях нами не было выявлено. В исследованиях было использовано несколько концентраций лигандов: 0,1, 10, 100 и 1000 мкг на лунку (в объеме 100 мкл). Исходя из данных литературы и прикидочным экспериментам оставили концентрации 0 (отрицательный контроль), 10 и 100 мкг/0,1мл.

В первую очередь можно отметить, что практически все природные лиганды давали достоверный положительный ответ относительно их рецепторов. Что касается лигандов синтетических – было все очень неоднозначно. Как и ожидалось, некоторые лиганды, содержащие РНК, приводили к опосредованному увеличению экспрессии гена TLR3. Т. е. мы можем предположить, что активация рецептора запускает его же экспрессию. По поводу лигандов, содержащих ДНК последовательности такой четкой закономерности нами не было определено. Большая часть представленных лигандов ДНК дозозависимо активировала TLR9, в меньшей степени – TLR7. Был

Экспрессия генов рецепторов TLR3, TLR7 и TLR9 после введения лигандов in vitro (на модели клеток Vero).

Лиганд	Время инкубации	TLR3		TLR7		TLR9	
Конц. (мкг)		10	100	10	100	10	100
Лизат	1	4,2*±0,7	4,6*±1,4	1,3±0,89	35,0*±0,9	7,2±6,5	48,9*±2,0
Candida albicans	3	5,4±4,21	6,72±2,5	3,64±0,46	1,72±2,1	6,9±6,8	0,83±1,59
	12	4,96±3,47	4,6±2,1	45,3±61,1	4,16±5,56	73,18±83,0	17,45±13,7
	24	3,04±1,32	34,64±37,85	7,76 ±5,09	34,29±24,6	5,6±3,2	6,79±7,2
	1	7,38*±5,02	13,78±20,76	4,93±3,45	2,6±0,9	1,3±0,2	86,3*±24,6
Candida albicans	3	6,86±3,67	5,4±65,32	3,28±8,92	57,8±46,15	9,5±4,68	6,4±8,9
	12	1,6±0,4	6,46±8,65	4,41±3,73	4,33±2,44	5,8±3,1	3,53±2,25
	24	3,75±2,87	34,82±56,33	32,7±40,46	3,52±2,77	4,3±8,6	56,2±41,7
DNA Canc 3_1	1	4,23±8,9	56,8±46,75	2,05±0,74	6,21*±4,07	5,84±6,17	63,87*±42,56
	3	4,4±3,76	1,33±2,49	4,43±0,76	1,59±0,21	0,43±1,59	1,23±0,89
	12	35,76±40,4	4,52±2,79	7,59±1,52	4,86±4,77	7,18±6,85	3,61±2,64
	24	0,2±0,1	34,3±43,65	4,76±29,1	6,36±5,59	14,71±12,3	4,14±1,43
DNA Canc 3_2	1	1,46±0,56	3,37±5,70	6,87±5,54	7,27±9,40	12,7*±5,6	1,33±2,79
	3	24,79±34,6	6,62±7,84	4,14±3,47	0,18±0,39	74,37±57,23	62,27±81,55
	12	64,26±106,4	4,53±3,75	8,34±5,95	3,43±4,77	3,87±12,4	4,64±3,83
DNA Canc 7_3	24	4,65±2,9	2,43±3,49	7,55±4,29	7,85±8,2	6,55±4,67	3,4±7,18
	1	4,43±5,7	10,32*±3,50	34,74±35,4	6,7±4,35	4,55±8,25	14,1*±2,32
	3	4,6±8,3	6,04±5,84	8,48±0,7	5,73±6,79	6,46±7,41	4,45*±1,89
	12	6,48±8,12	7,6±5,35	3,98±2,8	6,36±5,64	12,78±21,76	54,8±43,75
DNA Canc 7_4	24	75,47±69,2	6,56±7,67	2,73±1,71	7,15±5,25	6,4±2,42	1,63±2,29
	1	5,22±7,4	5,78±5,5	6,13±4,43	8,96±7,81	6,61*±2,73	37,6*±20,9
	3	6,20±3,89	4,73±2,9	7,23±8,6	13,68±20,9	1,13±0,89	1,7±0,6
	12	55,95±75,1	8,89±6,76	6,4±3,77	75,4±65,34	12,4±5,50	0,1±1,8
Контроль	24	4,3±3,22	36,26±47,4	33,76±40,8	6,76±8,63	5,6±3,7	62,34±84,0
		1,03±0,79		0,18±0,08		2,16±1,43	

получен следующий эффект – цельные (но разрушенные) микробы приводят к дозозависимому увеличению экспрессии исследуемых генов, в то время, как отдельные компоненты (в данном случае ДНК микроорганизмов) воздействуют только на TLR9.

**Выводы.** Клеточная линия Vero может быть использована в качестве модели для исследования спонтанной и индуцированной экспрессии генов TLRs и др. Синтетические лиганды приводили к увеличению уровня экспрессии генов эндосомальных TLRs, эффект был дозозависим и неоднозначен. Наибольшей активностью относительно TLR9 обладали природные лиганды (ДНК *S. albicans* приводит к увеличению уровня экспрессии в 40 раз). На следующем этапе работы были проведены эксперименты *in vitro* с полученными лигандами, при этом в качестве культур были использованы мононуклеарные клетки, а также макрофагальная линия U937.

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ КАНДИДОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖЕНЩИН

Тонконогова Н.В., Джусунгалиева М.Х., Абдрашитов Ш.Г.

НИКВИ МЗ Казахстана, Алма-Ата

Вагинальный кандидоз (ВК) – инфекционное поражение слизистой оболочки влагалища, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Это заболевание поражает, как правило, женщин репродуктивного возраста, реже встречается в пубертате, пери- и постменопаузе.

Актуальность проблемы объясняется высокой распространенностью и склонностью данной патологии к развитию хронического рецидивирующего кандидоза. За последнее десятилетие частота ВК почти удвоилась и в настоящее время составляет 30–45% случаев среди инфекционных поражений влагалища, закрепляя за собой второе место среди всех инфекций данной локализации после бактериального вагиноза. Кроме того, ВК часто приводит к снижению качества жизни, невротизации, способствует возникновению дизиммунных состояний, эндокринопатий и даже развитию неопластических процессов.

Нами проведено клиничко-лабораторное обследование 25 женщин с ВК, протекавшим у большинства хронически, с частыми обострениями с характерными клиническими симптомами (белые творожистые выделения, зуд, жжение).

Диагноз ВК установлен на основании наличия клинических проявлений и лабораторных исследований. Используемые методы диагностики – микроскопия мазков вагинального отделяемого в нативных и окрашенных по Граму препаратах в комплексе с культуральным исследованием при посеве на среде Сабуро.

Степень обсемененности определяли по числу выросших колоний во влагалищном содержимом (КОЕ/мл) – диагностически значимой являлась концентрация грибов в вагинальном отделяемом более  $10^3$  КОЕ/мл.

Родовая и видовая идентификация грибов проводилась с использованием тестов на определение ферментативной активности и ассимиляционной способности штамма, типа филаментации, а также характера роста в жидкой питательной среде. Помимо этого использовали тест на образование проростковых трубок, исследовали морфологию (образование гиф, псевдогиф, бластоконидий, хламидоспор, артроспор) выделенных грибов на специальной среде

(кукурузный агар с добавлением поверхностно-активного вещества «Твин-80»).

Всего выделено 26 штаммов дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Выделенные культуры в большинстве случаев – 80,9% (21 штамм) по вышеуказанным тестам были идентифицированы как *C. albicans*, в 11,5% (3 штамма) – как *C. tropicalis* и в 2-х случаях (по 3,8%) – *C. glabrata* (1) и ассоциация 2-х видов грибов – *C. albicans* и *C. parapsilosis* (1). Изучение морфологии выделенных культур позволило определить все формы вегетации у 56,0% пациентов, у 28,0% выявлена инвазивная псевдомицелиальная форма и у 16,0% определялись почкующиеся бластоспоры.

Одним из критериев эффективности проводимой терапии вагинального кандидоза является уровень чувствительности выделенных штаммов к противогрибковым препаратам.

**Результаты исследования.** У 26 штаммов *C. tropicalis* почти в 100% случаев отмечена чувствительность к клотримазолу и нистатину, в 63% – к кетоконазолу, в 33% к флуконазолу и резистентность к итраконазолу. Штаммы *C. albicans* проявили наибольшую чувствительность к нистатину (в 84% случаев), клотримазолу (72%), кетоконазолу (70%), менее чувствительные были к флуконазолу и итраконазолу (40 и 35% соответственно). Штаммы *C. parapsilosis* показали чувствительность только к клотримазолу, штаммы *C. glabrata* – к нистатину и клотримазолу и резистентны к остальным изученным препаратам.

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПАТОГЕННОСТИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ *CANDIDA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА

Тонконогова Н.В., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитов Ш.Г.  
НИКВИ МЗ Республики Казахстан, г. Алмата

С целью диагностики вагинального кандидоза проведено микробиологическое исследование у 63 женщин, обратившихся в акушерско-гинекологические учреждения г. Алматы. У 25 (39,7%) из них на питательных средах выделены дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Количественная оценка обсемененности показала у значительной 18 (72,0%) части обследованных весьма высокую обсемененность (более 1000 КОЕ/мл), диагностически значимая обсемененность установлена у 4 (16,0%). У 12,0% получены показатели, соответствующие параметрам групп риска кандидозной инфекции, ни в одном случае не выявлены данные, соответствующие пределам нормы.

У большинства обследованных наиболее частыми видами были *C. albicans* – 19 (76,0%), констатированные в большинстве случаев в группе с весьма высокой обсемененностью – у 14 (73,6%). *C. tropicalis* был идентифицирован у 5 (20,0%), в этой же группе. Лишь в единичном случае у 1 обследованной, по параметрам соответствующим группе риска выделен штамм, идентифицированный как *C. krusei* (4,0%).

Необходимо отметить интенсивное образование ростковых трубок у штаммов *C. albicans*, выделенных у женщин, относящихся к группе с высокой обсемененностью – 5,7%, в группе риска – у 33,3%. В этой же группе этот признак выявлен у 1 штамма *C. tropicalis* – 25,0%.

Таким образом, полученная качественно-количественная характеристика штаммов дрожжеподобных грибов, выделенных из мочеполового тракта женщин (высокая обсемененность, преобладание штаммов с выраженными патогенными свойствами) дает основание этиологически диагностировать вагинальный кандидоз.



## **Глава 5**

---

# **Противогрибковый иммунитет и микогенная сенсibilизация**

## **Chapter 5**

---

# **Antifungal immunity and sensitization to fungi**

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАНДИДА-МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ

Акышбаева К.С., Рамазанова Б.А.  
Казахский НМУ имени С.Д. Асфендиярова, г. Алмата

Исследование проведено на экспериментальной модели «Морские свинки + *C. albicans*, *M. hominis*». Опыты проведены на морских свинках ( $n = 13$ ), массой 700–750 г. Животные содержались на одинаковом пищевом рационе вивария. Морские свинки были разделены на 3 группы: инфицированные внутритестикулярно суспензией *M. hominis* и *C. albicans*, забитые на 29-е сут (середина цикла сперматогенеза) – I экспериментальная группа ( $n = 5$ ) и на 52-е сут (полный сперматогенный цикл) – II экспериментальная группа ( $n = 5$ ); контрольная ( $n = 3$ ) – III группа. В работе использованы штаммы *Candida albicans* (штамм №235), *M. hominis* (штамм №78), выделенные от больных с урогенитальным кандидозом и *M. hominis*-инфекцией. По биологическим, морфологическим свойствам данные виды соответствовали типичным представителям грибов рода *Candida* и микоплазмам семейства *Mycoplasmataceae*.

Предварительно животным вводили внутримышечно гидрокортизон в дозе 125 мг/кг массы один раз в сутки в течение двух дней. Взвесь *M. hominis* в концентрации  $1 \cdot 10^7$  и *C. albicans* в концентрации  $1 \cdot 10^6$  КОЕ клеток вводили интратестикулярно в правое яичко. Проводили наружный осмотр и органомерическое исследование внутренних органов животных (семенники с придатками и семявыносящими протоками, предстательная железа), забитых в разные сроки. Активность сперматогенеза, патологические изменения внутренних органов и органов урогенитального тракта оценивались на 29-е и 52-е сут после введения инфекта.

В наиболее ранние сроки (29-е сут) после введения инфекта отмечено снижение объема правых семенников и отсутствие сперматозоидов в правых придатках у 3 из 5 животных. Наблюдалось увеличение средней массы животных в обеих экспериментальных группах:  $817,00+43,29$  г и  $821,00+35,97$  г против:  $758,33+75,53$  г в контроле. В ранние сроки (на 29-е сут) показатели массы предстательной железы и ее весовые коэффициенты были несколько снижены ( $1,49+0,08$  г;  $0,0018+0,0001$  соответственно). Значительное уменьшение данных показателей регистрировалось в конце сперматогенного цикла:  $1,43+0,36$  г и  $0,0017+0,0002$ . Наблюдалось резкое

снижение массы правого семенника ( $1,62+0,42$  г против  $2,22+0,22$  г в контроле), масса левого составила  $1,59+0,59$  г, что также меньше контрольного показателя.

Результаты позволяют выделить комплекс структурно-функциональных изменений в органах репродуктивной системы, отражающих развитие атрофических и дисфункциональных процессов. Возможно, это можно объяснить как непосредственным действием инфекционных агентов, так и опосредованным действием через различные системы организма. Выявлена отчетливая зависимость морфо-функционального напряжения и степени нарушения сперматогенеза от инфицирования/неинфицирования органа и цикла сперматогенеза, соответствующие 29-м, 52-сут наблюдения. Более выраженные изменения наблюдались в правом семеннике (зараженный) в наблюдаемые сроки.

На 29-й сут (середина сперматогенного цикла) выявлены патологические изменения клеток Сертоли (суспенцитов), являющихся поддерживающими и питающими элементами для половых клеток, а также выполняющими функцию фагоцитоза, барьерную функцию, являясь одним из компонентов гемато-тестикулярного барьера. Наблюдается почти полное отсутствие сперматогенеза – блокада на уровне сперматогоний, что свидетельствует о выраженных нарушениях. Наблюдаются дистрофические изменения в элементах сперматогенного эпителия. Клетки с вакуолизированной цитоплазмой, нарушением конденсации хроматина ядра, разрушенными внутриклеточными органеллами. В митохондриях не выявляются внутренние кристы, цитоплазма их электроннопрозрачная.

В левом семеннике (незараженном) в эти сроки среди клеток Сертоли наблюдали образование сперматид с конденсацией хроматина в ядрах. Одновременно с образованием акросомы происходит формирование хвостовой части, в процессе образования которого участвуют центриоли, микротрубочки, митохондрии. В некоторых участках сперматогенного эпителия видны аксиальные комплексы будущих сперматид, состоящие из 9 сдвоенных периферически расположенных фибрилл и 2 одиночных фибрилл в центре. В сперматиде ранних этапов развития около ядер локализуются пластинчатые комплексы, принимающие участие в формировании акросомы. По мере созревания большая часть цитоплазмы этих клеток превращается в резидуальные тельца. Значительно число сперматид с нарушением формирования головки (неравномерная конденсация хроматина, появление вакуолей разной величины в ядре, асимметричность). Самыми зрелыми элементами в составе

эпителиальной выстилки являются сперматиды. Изменения процесса сперматогенеза в данные сроки можно оценить как торможение на уровне сперматид. Среди ассоциации половых клеток отсутствуют зрелые сперматозоиды, что свидетельствует об элиминации основного пула половых клеток.

При более поздних сроках наблюдения (52-е сут сперматогенного цикла) нарушения процесса дифференцировки и созревания половых клеток в правом семеннике выражаются в высокой степени дистрофических изменений в элементах сперматогенного пласта, подавлении процесса сперматогенеза на самых ранних стадиях. При торможении процесса сперматогенеза на уровне сперматогоний ультраструктурные изменения в стволовых клетках характеризуются вакуолизацией цитоплазмы, дезорганизацией ядерного материала, нарушением целостности цитолеммы.

Ультраструктурные изменения тканей левого семенника в эти сроки (на 52-е сут сперматогенного цикла) характеризуются дистрофическими изменениями во всех клетках сперматогенного эпителия, нарушением сперматогенеза. В клетках сперматогониях выявляются мембраноподобные структуры.

Таким образом, смешанная кандидо-микоплазменная инфекция вызывает нарушение процесса дифференцировки и созревания половых клеток в семенных канальцах, характеризующихся как дистрофическими изменениями клеток сперматогенного слоя (клетки Сертоли), так и половых клеток. Наблюдается торможение сперматогенеза на различном уровне (сперматогоний, сперматид).

## ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПЛЕСНЕВЫМ ГРИБАМ И КЛЕЩАМ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ

Бержец В.М., Хлгатын С.В., Коренева Е.А., Емельянова О.Ю.,  
Радикова О.В., Васильева А.В.  
НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

В последние годы особое внимание многих исследователей направлено на изучение проблемы микогенной аллергии. Аллергенными свойствами обладают свыше 300 видов микромицетов, причем доминирующую роль в формировании сенсibilизации человека играют плесневые грибы родов *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Mucor* spp., *Cladosporium* spp. [1].

Согласно данным литературы микогенная аллергия встречается у 6–24% населения и у 44% больных атопией [2]. В связи с тем, то максимальная концентрация грибковых спор в воздухе отмечается в летний период, аллергия к плесневым грибам может проявляться под маской поллинозов или сопутствовать им [2, 3]. Кроме того, плесневые грибы и их споры постоянно присутствуют в жилых помещениях человека. Наряду с клещами рода *Dermatophagoides*, они являются одними из основных аллергенных компонентов домашней пыли. В пробах домашней пыли и воздуха жилых помещений чаще встречаются грибы родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Candida*. Также, имеются данные о том, что плесневые грибы и их споры являются пищевым субстратом для дерматофагидных клещей [4, 5].

Такое тесное взаимодействие является фактором развития у человека аллергии к бытовым клещам и плесневым грибам одновременно. Частота обнаружения сочетанной клещевой и грибковой сенсibilизации, по данным разных авторов, достигает 80% [5, 6]. Изучение ее структуры представляет большой интерес, т.к. точное определение спектра причинно значимых для пациента аллергенов определяет тактику ведения и прогноз дальнейшего развития атопического заболевания.

Для изучения распространенности и структуры сенсibilизации к плесневым грибам и клещам домашней пыли нами были исследованы сыворотки пациентов, проживающих в Москве и Московской области. За период 2009–2014 гг. было обследовано 3140 пациентов в возрасте от полутора лет до 21 года из числа обратившихся в КПО ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» с жалобами на кожные и респираторные проявления аллергического характера.

Для изучения содержания специфических IgE-антител в сыворотках крови пациентов мы использовали метод AllergyScreen (R-Biopharm AG, Германия), позволяющий проводить качественное и количественное определение антител. Тест AllergyScreen основан на принципе иммуоблоттинга. Оценка результата производится с помощью прибора RIDA-X-Screen. Ошибка метода 0,3%.

В исследуемых сыворотках определяли уровень специфических IgE-антител к аллергенам клещей рода *Dermatophagoides*, к пыльцевым и эпидермальным аллергенам, а также четырем видам наиболее распространенных плесневых грибов. Уровень специфических IgE-антител определяли в международных единицах (МЕ/мл) и в классах реакции:

- 1 класс – пороговый уровень – 0,35 – 0,69 МЕ/мл;
- 2 класс – уверенно увеличенный уровень – 0,7 – 3,49 МЕ/мл;
- 3 класс – значительно увеличенный уровень МЕ/мл;
- 5 класс – очень высокий уровень – 50,0 – 100,0 МЕ/мл;
- 6 класс – исключительно высокий уровень > 100 МЕ/мл.

Согласно полученным данным? повышенная чувствительность к плесневым грибам выявлена у 20% обследованных (651 чел.). Обработка результатов исследования показала, что у 72% преобладает сенсibilизация к *Alternaria alternata* (468 чел.), реже встречается сенсibilизация к *Cladosporium herbarum* (50%, 325 чел.), *Aspergillus fumigatus* (29%, 188 чел.) и *Penicillium notatum* (15%, 98 чел.). Высокий класс реакции был характерен для сывороток, содержащих специфические IgE-антитела к *Alternaria alternata* (3–4 класс до 38%), для других видов плесневых грибов в большинстве исследуемых сывороток этот показатель не превышал 1 – 2 класс.

Моносенсibilизация к грибковым аллергенам выявлена у 111 пациентов, причем моносенсibilизация к *Alternaria alternata* встречалась в 12% случаев (13 чел.), к *Cladosporium herbarum* – 8% (9 чел.), к *Aspergillus fumigatus* выявлена у 3 человек. Значительно выше частота встречаемости аллергии одновременно к нескольким видам плесневых грибов. В сочетании с другими видами микоаллергенов наиболее распространена сенсibilизация к *Cladosporium herbarum* и *Penicillium notatum* (табл. 1).

Специфические IgE-антитела к клещам рода *Dermatophagoides* выявлены в 384 образцах (12%). У большинства пациентов в крови присутствуют антитела и к *D. farinae*, и к *D. pteronyssinus*. В зависимости от концентрации специфических IgE-антител, сыворотки распределились следующим образом (рис. 1).

Таблица 1. Структура сенсibilизации к плесневым грибам

Виды плесневых грибов	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Penicillium notatum</i>
<i>Alternaria alternata</i>	-	57%	62%	64%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	23%	-	41%	43%
<i>Cladosporium herbarum</i>	42%	70%	-	88%
<i>Penicillium notatum</i>	15%	22%	28%	-

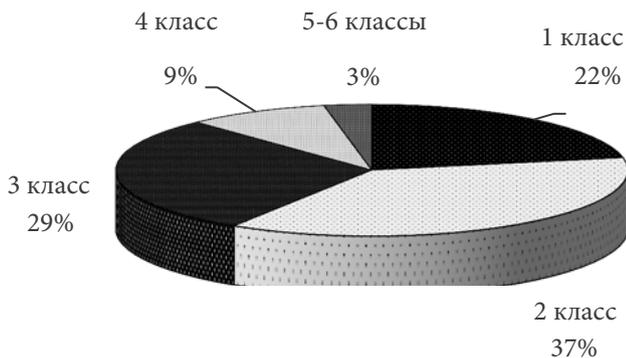


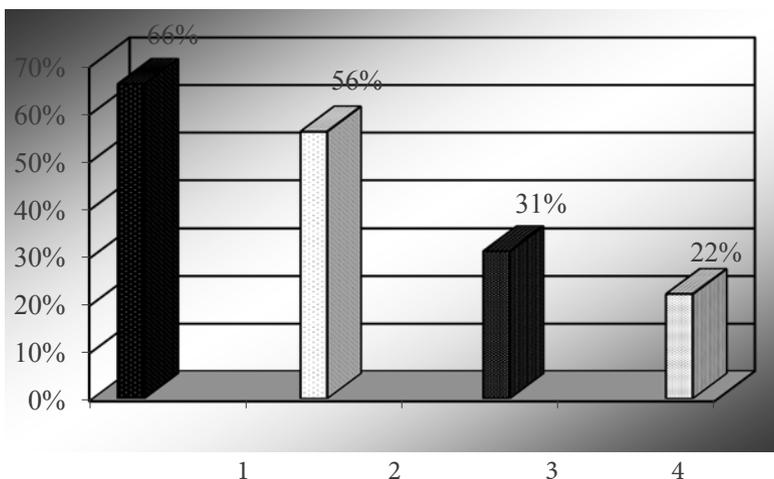
Рис. 1 Сенсibilизация к клещам домашней пыли.

Как видно из представленных данных, у большинства обследованных уровень сенсibilизации к клещам домашней пыли умеренный: в сыворотках 88% пациентов содержание специфических IgE-антител не превышало 17,49 МЕ/мл (1–3 класс реакции). Высокий и очень высокий уровень антител наблюдался только у 12% больных. Возможно, это связано с умеренным уровнем содержания клещей домашней пыли в жилищах большинства пациентов и, следовательно, невысокой аллергенной нагрузкой.

Сенсибилизация только к одному виду клещей встречалась реже: к *D. farinae* – у 99-ти пациентов (23% в группе с клещевой сенсибилизацией), к *D. pteronyssinus* – у 36-ти пациентов (9%). Высокоспецифические сыворотки к аллергенам *D. pteronyssinus* (4 – 6 класса) выявлялись в среднем 1,5–2 раза чаще, чем к *D. farinae*. В то же время для большинства сывороток характерно низкое содержание специфического IgE (82%) – от 0,35 до 3,49 МЕ/мл (1-2 класс реакции по RIDA-X-Screen).

Моносенсибилизация к одному из видов клещей домашней пыли выявлялась у небольшого количества пациентов: у 15-ти человек (4%) – к *D. farinae*, у 3-х (0,7%) – к *D. pteronyssinus*, причем уровень специфических IgE-антител не превышал 1 – 2 класс реакции по RIDA-X-Screen. При моносенсибилизации к обоим видам клещей (33 человека, 8%) уровень специфичности сывороток был значительно выше: 48% образцов имели концентрацию специфических IgE антител 18,65 – 27,27 МЕ/мл (3 – 4 класс по RIDA-X-Screen).

Сочетанная сенсибилизация к клещам домашней пыли и плесневым грибам выявлена у 144 пациентов (22% от общего числа пациентов с аллергией к плесневым грибам) (рис. 2).



1 – *Alternaria alternata*, 2 – *Cladosporium herbarum*  
3 – *Aspergillus fumigatus*, 4 – *Penicillium notatum*

Рис. 2. Структура сочетанной сенсибилизации к плесневым грибам и клещам домашней пыли

Наиболее часто встречается одновременная сенсibilизация к клещам и к грибам *Alternaria alternata* (у 66%), *Cladosporium herbarum* (у 56% пациентов в данной группе). Следует отметить, что в этой группе высокие титры специфических антител встречаются в 2 раза реже, чем в группе пациентов с поллинозами.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что среди пациентов с аллергией к плесневым грибам частота встречаемости сенсibilизации к клещам рода *Dermatophagoides* довольно высока. Ввиду важности точного выявления причинно значимого для пациента аллергена, необходимо использование для диагностики надежных диагностических препаратов, изготовленных из сырьевых субстратов, характерных для конкретного региона.

Нами разработана диагностическая панель из аллергенов плесневых грибов. С учетом распространенности сочетанной клещевой и грибковой сенсibilизации, мы считаем целесообразным создание смешанной панели, содержащей аллергены из микромицетов, доминирующих в конкретном регионе, и аллергены из клещей домашней пыли рода *Dermatophagoides*.

### Список литературы

1. Климко Н.Н., Богомолова Т.С., Васильева Н.В. Микогенная аллергия у жителей помещений, пораженных микромицетами. Пробл. мед. микол. 2008; 2: 17-21.
2. Рыжкин Д.В., Еланский С.Н., Желтикова Т.М. Мониторинг концентрации спор грибов *Cladosporium* и *Alternaria* в атмосферном воздухе г. Москвы. Атмосфера. Пульмонол. аллергол. 2002; 2: 30-1.
3. Gioulekas D, Damialis A, Papakosta D et al. Allergenic fungi spore records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki-Greece. J Invest Allergol Clin Immunol. 2004; 14(3): 225-31.
4. Arbes SJ, Cohn RD, Yin M et al. House dust mite allergen in US beds: results from the First National Survey of Lead and Allergens in Housing In Process Citation. J Allergy Clin Immunol. 2003; 111(2): 408-14.
5. Hay DB, Hart BJ, Douglas AE. Effects of the fungus *Aspergillus penicillioides* on the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*: an experimental re-evaluation. Med Veter Entomol. 1993; 7: 271-4
6. Ахапкина И.Г., Добронравова Е.В., Краханенкова С.Н. и др. Частота встречаемости гиперчувствительности к грибным и клещевым аллергенам. Клин. лаб. диагн. 2009; 7: 33-5.

## СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ К *ALTERNARIA ALTERNATA* У БОЛЬНЫХ ДИСГИДРОТИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМОЙ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Бизунова М.А., Ильина Н.Г., Сергеева И.Г.  
Новосибирский государственный университет

Аллергены плесневых грибов являются нередким компонентом домашней пыли и могут выступать как провоцирующий фактор аллергических заболеваний. Сенсибилизация может развиваться не только к плесневым грибам, обнаруживаемым в воздухе, но и к находящимся на коже и слизистых оболочках. Чаще всего обнаруживаются споры грибов рода *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*.

Цель работы – определение уровня специфического IgE к *A. alternata* у больных дисгидротической экземой и атопическим дерматитом.

**Материалы и методы.** Для изучения специфической сенсибилизации к грибку *A. alternata* методом случайной выборки было отобрано 3 группы пациентов в возрасте от 18 до 45 лет. Первую группу наблюдений составили 23 пациента с дисгидротической экземой. Вторую группу – 17 больных атопическим дерматитом. Третью группу – 23 человека с неотягощенным личным и семейным аллергологическим анамнезом. Всем пациентам был произведен забор крови для определения специфических IgE (МЕ/мл) к 20 аллергенам педиатрической аллергопанели с назначением класса аллергореактивности с 1 (0,35–0,69 МЕ/мл) по 6 (>100,0 МЕ/мл).

**Результаты.** У 13% больных дисгидротической экземой выявили специфическую сенсибилизацию 2-го класса аллергореактивности (0,79–3,49 МЕ/мл) к грибку *A.A.*

Повышенный уровень специфических IgE выявлен у 23,5% больных атопическим дерматитом. Специфическую сенсибилизацию первого класса аллергореактивности (0,35–0,69 МЕ/мл) к грибку *A. alternata* выявили у 5,8% пациентов с атопическим дерматитом, второго класса (0,79–3,49 МЕ/мл) – у 17,6%.

В группе с неотягощенным личным и семейным аллергологическим анамнезом 26% пациентов имели специфическую сенсибилизацию к грибку *A. alternata*. Причем сенсибилизацию первого класса аллергореактивности имели 4,3% пациентов, 2-го класса – 21,7%.

**Выводы.** Специфическая сенсибилизация к грибку *A. alternata* выявлена у 26% лиц с неотягощенным личным и семейным аллергологическим анамнезом и не увеличивается у пациентов с атопическим дерматитом и у больных дисгидротической экземой.

## УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММА *CANDIDA ALBICANS* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО КАНДИДА- СПЕЦИФИЧНОГО АЛЛЕРГЕНА

Блинкова Л.П., Бержец В.М., Хлгатян С.В., Радикова О.В.,  
Васильева А.В., Коренева Е.А., Пищулина Л.А.

НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва

Среди полученных нами клинических культур был выбран штамм *C. albicans*, который отвечал вышеуказанным свойствам. Наиболее значимыми параметрами для изучения нашего штамма были: концентрация глюкозы и способ ее внесения в среду, сроки выращивания посевной культуры и сроки культивирования штамма.

Выращивание *C. albicans* проводили в стеклянных емкостях (матрасы, бутылки), отвечающих требованиям мелкосерийного производства, при котором выход биомассы будет достаточен для получения 300–500 г аллергена. Экономичный вариант концентрации носимой глюкозы для выращивания оказался около 1%, возраст посевной культуры не менее 48 ч, а длительность культивирования составляла не менее 7 сут. В результате использования выбранных биотехнологических параметров культивирования мы получили 7 серий биомассы *C. albicans* и изучали ее физико-химические свойства и специфическую активность.

Аллерген из биомассы получали по оригинальной методике, ранее разработанной и внедренной в производство (В.М. Бержец и др., 1985). Физико-химические показатели изученных серий были следующими: оптическая плотность суспензии имела минимальное значение  $6,57 \pm 0,025$ , а максимальное значение  $15,0 \pm 0,09$ . Средние количества белка колебались от 8000 до 13000 PNU/мл. Средний уровень углеводов был от 0,03 до 0,1 мг/мл.

Максимальный показатель НДТК составлял  $50 \pm 3\%$ . Результаты изучения непрямого дегрануляции тучных клеток (НДТК) свидетельствуют о значительной специфической активности полученного аллергена.

**Вывод.** Изученные биотехнологические показатели выращивания позволяют получить биомассу *C. albicans*, из которой выделяется высоко специфичный аллерген.

## К ВОПРОСУ ОБ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ТРИХОФИТИИ

Даниленко Р.У., Хисматуллина З.Р., Мухамадеева О.Р.,  
Глимнурова Л.М., Дорожко Л.А.  
БГМУ МЗРФ, Республиканский КВД, Уфа

Цель исследования – изучение интенсивности иммунного ответа организма на возбудитель у пациентов с различными формами зооантропонозной трихофитии.

По результатам исследований активности иммунного ответа на антигены возбудителя в реакциях РБТЛ и РПГА у больных зооантропонозной трихофитией, а также реактивности нейтрофильных лейкоцитов крови (фунгицидная активность, активация кислород-зависимого метаболизма в спонтанном и индуцированном грибами НСТ), в большей степени различия в интенсивности иммунной реакции были связаны с формированием у больных различных клинических форм зооантропонозной трихофитии, а не вида гриба-возбудителя. Вне зависимости от вида возбудителя при нагноительной трихофитии в сравнении с инфильтративной формой, у больных отмечены более выраженные показатели гуморального и клеточного иммунного ответа, и более высокая активация нейтрофилов в спонтанном и индуцированном грибами НСТ-тесте при более низкой фунгицидной способности.

Показано, что достоверных различий в группах с разными возбудителями выявлено не было, хотя и просматривалась тенденция при трихофитии, вызванной *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum*, к большей реактивности клеток нейтрофильного звена и стимуляции антителиогенеза, а при трихофитии, обусловленной *T. verrucosum*, – «клеточно-опосредованного» иммунного ответа.

Таким образом, для достижения оптимального терапевтического эффекта при использовании антифунгальных препаратов необходимо дополнительное применение адекватных средств патогенетической терапии, спектр которых варьирует в зависимости от клинической формы зооантропонозной трихофитии. Комбинирование противогрибковых, иммуномодулирующих и противовоспалительных препаратов позволит добиться оптимального для той или иной клинической формы зооантропонозной трихофитии вектора патогенетического воздействия и, соответственно, высокой эффективности терапии.

## МИКОБИОТА ПЫЛИ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ г. ХАБАРОВСКА

Егорова Л.Н., Железнова Л.В., Максименко Е.С.

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Дальневосточный Федераль-  
ный Университет, Владивосток

Проведенные в ряде городов Европы, Азии, Америки, Австралии исследования микобиоты городских помещений показали не только богатое таксономическое разнообразие обитающих в них микромицетов, но и региональную специфику формирующихся в них антропогенных микоценозов как на родовом, так и на видовом уровне [1–4].

В России исследования микобиоты городских помещений проводились, в основном, в Москве и Санкт-Петербурге. Изучались грибы-контаминанты разнообразных поверхностей и конструкций, а также обитатели воздуха и домашней пыли в помещениях различного назначения, в том числе жилых [5, 6].

На Дальнем Востоке в 2005–2006 гг. было проведено изучение микобиоты воздуха в административных, больничных и жилых помещениях г. Владивостока, а также исследована фауна клещей домашней пыли как основной источник аллергенов [7–9]. Выявлены доминирующие комплексы микромицетов с преобладанием родов *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, отмечена специфичность видового состава в разных типах помещений. Акарофауна домашней пыли г. Владивостока в период 1998–2007 гг. характеризовалась 100% встречаемостью и высокой численностью клещей сем. *Puuglyfidae*.

Целью данного исследования было изучение видового состава и численности микромицетов, обитающих в пыли жилых помещений г. Хабаровска. В период с ноября 2008 г. по апрель 2009 г. было обследовано 100 квартир, расположенных в 5 административных районах города и 3 пригородных поселках. Пробы пыли отбирали с помощью бытового пылесоса «Kirby».

Для выделения микромицетов из образцов пыли использовался общепринятый метод серийных разведений с последующим высевом суспензии на среду Чапека [10]. Анализ структуры выделенных сообществ микромицетов проводился на основании показателей частоты встречаемости видов [11]. При анализе присутствия потенциально патогенных грибов использовались известные списки видов различных групп патогенности [12].

Из отобранных образцов пыли выделено 20 видов микроскопических грибов из 7 родов. Наибольшим количеством видов представлен род *Aspergillus* – 11, род *Penicillium* включает 4 вида, остальные 5 родов (*Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Trichoderma*, *Mucor*) – по 1 виду каждый.

Таксономическая структура [13] выявленной микобиоты представлена отделами Zygomycota – 1 вид из 1 рода и Ascomycota – 19 видов из 7 родов, принадлежащих морфологической группе анаморфных грибов.

Отдел Zygomycota представлен одним видом *Mucor* – *M. hiemalis* с частотой встречаемости менее 10% (случайные виды).

Отдел Ascomycota включает следующие виды родов: *Aspergillus* – *A. amstelodami*, *A. candidus*, *A. effusus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, *A. versicolor*, *A. wentii*; *Penicillium* – *P. canescens*, *P. aurantiogriseum*, *P. janchewskii*, *P. chrysogenum*, а также *Aureobasidium pullulans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Chrysonilia sitophila*, *Trichoderma viride*.

Среди представителей наиболее многовидового рода *Aspergillus* частой встречаемостью (30–60%) характеризуются такие виды, как *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. wentii*, *A. versicolor*, что позволяет отнести их к группе типичных частых видов. В эту же группу следует включить все вышеперечисленные виды *Penicillium*. Такие виды, как *A. candidus*, *A. effusus*, *A. nidulans*, *A. amstelodami*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, а также выявленные в процессе проведенных исследований представители родов *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Trichoderma* принадлежат группе типичных редких видов (частота встречаемости 10–30 %). К доминантным видам (частота встречаемости более 60%) относится *A. niger*.

В результате проведенных исследований установлены средние значения концентрации спор грибов в пыли обследованных помещений, которые варьировали в пределах  $1,1 \times 10^5$  до  $9,5 \times 10^5$  КОЕ/г. Наибольшим количеством КОЕ представлены следующие виды: *A. niger* ( $8,5 - 9,5 \times 10^5$ ), *A. effusus* ( $5,8 \times 10^5$ ), *A. tamarii* ( $5,5-6,4 \times 10^5$ ), *A. flavus* ( $4,5 \times 10^5$ ).

Следует отметить, что микрокромиицы, входящие в состав микобиоты домашней пыли, являются обычными обитателями почвы, контаминантами пищевых продуктов, биодеструкторами самых разнообразных материалов и изделий, окружающих человека в повседневной жизни. В тоже время, многие из них принадлежат к числу патогенных и условно-патогенных грибов, вызывающих различного рода заболевания.

Как возбудители оппортунистических микозов человека и животных наиболее известны микромицеты *Aspergillus* и *Penicillium*, продуцирующие разнообразные микотоксины и вызывающие бронхо-легочные заболевания, поражения сердечно-сосудистой и центральной нервной системы.

### Список литературы

1. Microorganisms in home and indoor work environments. Ed. B. Flannigan, RA Samson, JD Miller. London and New York: Taylor & Francis. 2001: 541 p.
2. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
3. Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras M J. Atlas of clinical fungi. Utrecht. Reus, Spane: Universitat Rovira i Virgili. 2000: 1126 p.
4. Антонов В. В. Микозы и микогенная аллергия как антропогенно-очаговые заболевания. Усп. мед. микол. 2005; 5: 54-6.
5. Антропова А. Б. Микромицеты как источник аллергенов в жилых помещениях г. Москвы: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва, 2005: 24 с.
6. Иванова А.М., Кирцидели И.Ю., Мельник В. А. Микромицеты в жилой среде Санкт-Петербурга. Новости систематики низших растений. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та. 2005; 38: 109-17.
7. Егорова Л.Н., Климова Ю.А. Сапротрофные микромицеты в воздухе различных помещений г. Владивостока. Усп. мед. микол. 2005; 5: 64-7.
8. Егорова Л.Н., Климова Ю.А. Микобиота воздуха в помещениях различного назначения г. Владивостока. Микол. фитопатол. 2006; 40(3): 487-91.
9. Железнова Л.В. Акарокомплекс пыли города Владивостока: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2007: 23 с.
10. Методы экспериментальной микологии. Справочник. Под ред. И.А. Дудка и др. Киев: Наук. думка. 1982: 550 с.
11. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: МГУ, 1988: 220 с.
12. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир. 2001: 468 с.
13. Kirk PM, Cannon PE, Minter DW., Stalpers JA. Ainsworth et Bisby's Dictionary of the fungi. Wallingford: CABI. 2008: 771 p.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ГРИБАМ ПЛЕСЕНИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ

Богуцкая Н.К., Гарас Н.Н.

Буковинский государственный медицинский университет,  
Черновцы, Украина

Круглогодичный аллергический ринит чаще вызывается сенсibilизацией к аллергенам домашней пыли, тараканов, эпидермальным аллергенам домашних животных или аллергенам грибов плесени. Данные литературы по клинической значимости сенсibilизации к аэроаллергенам грибов у детей с аллергическим ринитом и сопутствующей астмой имеют противоречивый характер [1,2].

**Цель исследования** – оценить клиническое значение сенсibilизации к грибам плесени у детей, страдающих круглогодичным аллергическим ринитом.

Обследовано 35 детей 6–18 лет с круглогодичным аллергическим ринитом, из которых 18 болели астмой. Исследовано содержание специфических IgE (сIgE) в сыворотке крови (радиоаллергосорбентный тест ImmunoCAP Specific IgE 0–100 с минимальным уровнем определения 0,1 kU/l) и кожную гиперчувствительность по прик-тестам (Stallergenes) к 13 клещевым, эпидермальным, пыльцевым аллергенам и аллергенам микромицетов *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*.

**Результаты.** Сенсibilизация к хотя бы одному из микоаллергенов обнаружена в 25% обследованных детей, однако слабо и умеренно выраженные положительные значения сIgE (соответственно >0,35 и 0,7 kU/l) установлены только в 15 и 5% обследованных детей соответственно. Значительное содержание сIgE (>3,5 kU/l) обнаружено только к клещевым, эпидермальным и пыльцевым аллергенам.

Гиперчувствительность к грибам плесени по размерам папулы и содержанию сIgE в сыворотке крови ( $M \pm m$ ) к *Cladosporium*, *Alternaria* и *Aspergillus* составила  $1,5 \pm 1,2$  мм,  $1,4 \pm 1,2$  мм,  $0,06 \pm 0,15$  мм и  $0,08 \pm 0,24$  kU/l,  $0,17 \pm 0,59$  kU/l и  $0,06 \pm 0,15$  kU/l соответственно. В подгруппах детей с комбинацией аллергического ринита и астмы и больных исключительно аллергическим ринитом никаких различий по сенсibilизации к микоаллергенам по данным прик-тестов или содержанию сIgE не установлено.

У жителей сельской местности уровень гиперчувствительности к грибам плесени *Cladosporium* и *Alternaria*, более распространенных

снаружи помещений, по данным сIgE был выше, чем у городских жителей, а у жителей городов были большими размеры кожной папулы именно к внутридомовым грибам *Aspergillus* ( $1,8 \pm 1,0$  против  $0,6 \pm 0,7$  мм,  $p < 0,01$ ).

Гиперчувствительность к микоаллергенам слабо положительно ассоциировалась с наличием атопического дерматита, непереносимостью лекарств, и умеренно – с выраженными глазными симптомами аллергического ринита, косенсибилизацией к таракану и лимфоцитозом крови. Существовала сильная внутригрупповая прямая корреляционная связь между показателями сенсibilизации к различным микоаллергенам ( $r = 0,85-98$ ,  $p < 0,05$ ), что отражает характерную для грибковой аллергии перекрестную реактивность.

Таким образом, преимущественно слабоположительную сенсibilизацию к грибам плесени выявляли только у каждого пятого пациента с круглогодичным аллергическим ринитом при отсутствии клинико-иммунологических различий по сопутствующей астме. Микогенная аллергия имела наименьшую этиологическую значимость в развитии круглогодичного аллергического ринита, по сравнению с клещевыми и эпидермальными аллергенами.

#### Список литературы

1. Нестерова А.В., Нестеров А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И. Аллергологическая характеристика детей с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой. Наука и образ. 2012; 6: 4-8.
2. Позднякова О.Ю. Грибковая сенсibilизация у пациентов с бронхиальной астмой. Межд. н.-иссл. журн. 2013; 12: 54-57.

## ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ ПРИ ГРИБКОВЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТРИГГЕРАХ ОБОСТРЕНИЯ

Гарас Н.Н.

Буковинский государственный медицинский университет,  
Черновцы, Украина

Исследования последних лет убедительно свидетельствуют о том, что наряду с вирусной и бактериальной респираторной инфекцией существенная роль в развитии обострений бронхиальной астмы принадлежит как атипичным внутриклеточным бактериям (*M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae*), так и грибковой флоре (в частности, *S. albicans*), что создает некую неопределенность для практического врача в плане выбора тактики достижения и удержания контроля симптомов заболевания [1].

**Цель работы** – изучить особенности контроля бронхиальной астмы у детей в зависимости от результатов микроскопического и бактериологического анализа индуцированной мокроты.

**Материал и методы.** На базе пульмоаллергологического отделения ОДКБ (Черновцы, Украина) обследовано 42 детей, страдающих бронхиальной астмой (БА), из которых, по данным микроскопического и бактериологического исследований индуцированной мокроты, сформированы две клинические группы сравнения. В 1-ю группу (I) вошли 10 пациентов с грибковой этиологии воспаления бронхов при обострении БА (87,5% мальчиков, средний возраст  $12,6 \pm 1,15$  лет), во 2-ю (II) клиническую группу – 32 детей, при анализе индуцированного мокроты в которых не выделено грибковой флоры (63,3% мальчиков, средний возраст  $12,1 \pm 0,65$  лет). Для оценки контроля БА использовалась анкета клинических и спирометрических данных [2], по которой улучшение контроля проявлений заболевания сопровождалось уменьшением балльной оценки.

**Результаты исследования.** Установлено, что у пациентов I клинической группы по сравнению с детьми II группы наблюдается достоверно хуже контроль заболевания по клиническим показателям ( $19,0 \pm 3,0$  баллов против  $12,2 \pm 1,5$  баллов,  $p < 0,05$ ), в частности, у детей с грибковой этиологией воспаления бронхов достоверно чаще отмечались дневные ( $4,0 \pm 1,1$  против  $1,8 \pm 0,7$  баллов,  $p < 0,05$ ) и ночные симптомы ( $3,0 \pm 0,2$  против  $1,5 \pm 0,4$  баллов,  $p < 0,05$ ), что приводило к достоверно частой необходимости в ситуативном использовании  $\beta_2$  адrenomиметиков короткого действия ( $3,0 \pm 0,3$

против  $1,9 \pm 0,3$  баллов,  $p < 0,05$ ). Также в данной группе пациентов в течение последнего года достоверно чаще были обострения БА ( $3,0 \pm 0,2$  против  $2,2 \pm 0,3$  баллов,  $p < 0,05$ ).

**Вывод.** Таким образом, у детей с грибковой этиологией обострения бронхиальной астмы отмечается достоверно хуже контроль симптомов бронхиальной астмы на фоне базисной терапии.

### Список литературы

1. Позднякова О.Ю. Грибковая сенсibilизация у пациентов с бронхиальной астмой. Межд. н.-иссл. журн. 2013; 12: 54-7.
2. Stout JW, Cynthia M, Visness K. Classification of asthma severity in children. The contribution of pulmonary function testing. Arch Pediatr Adolesc Med. 2006; 160(8): 844-50.

## АЛЛЕРГИЧЕСКИЙ БРОНХОЛЕГОЧНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

Козлова Я.И., Борзова Ю.В., Малеева Е.Г., Фролова Е.В.,  
Аак О.В., Климко Н.Н.

Северо-Западный Государственный медицинский университет  
им. И. И. Мечникова,  
НИИ Медицинской микологии им. П.Н. Капкина,  
Санкт-Петербург

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) осложняет течение и значительно ухудшает функцию дыхания больных муковисцидозом. По данным международных исследований, частота АБЛА среди пациентов с муковисцидозом составляет от 2 до 15%.

**Цель работы** – изучить микогенную сенсибилизацию и оценить частоту развития АБЛА у больных муковисцидозом в Санкт-Петербурге.

**Материалы и методы.** Обследовали 21 больного муковисцидозом. Медиана по возрасту 13 лет (от 4 до 37 лет), мужчин – 52%, женщин – 48%. Всем пациентам проводили кожное тестирование с шестью грибковыми аллергенами, определение уровня общего IgE (иммуноферментный анализ) и специфических IgE грибковым аллергенам в сыворотке крови, определение уровня IgG к *Aspergillus fumigatus*, а также микроскопию и посев мокроты. Специфические IgE к грибковым, бытовым и эпидермальным аллергенам определяли с помощью множественного аллергосорбентного теста с применением хемилюминесцентного анализа (MAST-CLA) компании «Хитачи Кемикл Диагностикс, Инк.» (США). При подозрении на АБЛА выполняли компьютерную томографию органов грудной клетки. Критерием микогенной сенсибилизации считали выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу 1 и выше. Диагноз АБЛА – на основании критериев Stevens et all. (2003 г.)

**Результаты.** Микогенную сенсибилизацию по положительным результатам кожных прик-тестов и/или выявлению специфических IgE к грибковым аллергенам в сыворотке крови определили у 12 больных (57%), наиболее часто – к *Aspergillus* spp. (48%). Частота сенсибилизации к другим микромицетам составила: *Candida* spp. – 38%, *Alternaria* spp. – 24%, *Penicillium* spp. – 14 %, *Rhizopus* spp. – 10 %. Уровень общего IgE варьировал от 12 до 979 ед/мл (медиана – 245).

IgG к *Aspergillus fumigatus* выявили у 5 (24%) больных. При посеве мокроты рост *Aspergillus* spp. получен у 5 (24%) больных.

Аллергический бронхолегочный аспергиллез выявлен у двух пациентов (10%).

**Вывод.** Частота микогенной сенсibilизации у больных муковисцидозом составила 57%, к *Aspergillus* spp. – 48%. Развитие АБЛА выявили у 2 больных (10%). Больным муковисцидозом показано проведение скринингового обследования для выявления и лечения АБЛА.

## МИКРОМИЦЕТЫ ЖИЛЫХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

*Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б.*

*Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича  
НАНБ, Минск*

В условиях города перепады температур и влажности способствуют активному развитию как непатогенной, так и патогенной для растений и человека микобиоты. Споры грибов попадают в помещения из внешней среды с атмосферным воздухом, заносятся человеком на одежде, обуви, предметах быта и т.д., а благодаря наличию широкого спектра ферментов, грибы могут использовать в качестве пищевого субстрата различные материалы как естественного, так и искусственного происхождения: древесину, обои, текстиль, масляные и водоэмульсионные краски, штукатурку, побелку, цемент. Могут активно колонизировать и расти на мебели, стенах, оконных рамах, трубах отопления, одежде, обуви и т.д., оказывая деструктивное действие не только на предметы интерьера, но и на здоровье человека.

Данные о составе микрофлоры воздуха закрытых помещений весьма актуальны, так как в воздухе почти всегда присутствуют патогенные организмы, способные вызвать различные заболевания при высокой концентрации и прочих сопутствующих условиях. Присутствие грибов (споры, фрагменты мицелия) и их метаболитов в воздухе может оказывать токсическое воздействие, способствовать развитию микозов, а также провоцировать развитие аллергических реакций [1].

Спектр ведущих аллергенов плесневых грибов в разных климатогеографических регионах различен, что напрямую связано с особенностями микобиоты конкретного региона. Микроскопические грибы жилых и промышленных помещений имеют определенный видовой состав и особую пространственно-организационную структуру, что позволяет им при наличии благоприятных условий быстро колонизировать подходящие для их роста субстраты. Проведенные исследования свидетельствуют о постоянном увеличении числа аллергических заболеваний, включая рост микогенной сенсибилизации, т.е. грибы являются фактором риска развития аллергии у лиц с генетической предрасположенностью к атопии, наследственной формой повышенной чувствительности организма к факторам окружающей среды.

По данным разных авторов, от 6 до 15% всего населения и от 2 до 30% аллергически больных людей сенсибилизированы к микроспорогам [2, 3].

В рамках оказания услуг населению в период с 2013–2014 гг. были обследованы 5 производственных и 20 жилых помещений с признаками поражения плесневыми грибами в виде налетов на стенах, потолке, полу, окнах. Выделение грибов из проб образцов (фрагменты обоев, соскобы с поверхностей) на агаризованную питательную среду, проводилось в соответствии с общепринятыми стандартными методами. Всего было выделено порядка 38 видов мицелиальных грибов, 32 вида в анаморфной стадии, 1 вид в телеоморфной, 4 вида зигомицетов и 1 вид дрожжей.

В работе [4] были представлены данные по видовому составу грибов домашней пыли в г. Москве, которые показывают, что основными и доминирующими в структуре микобиоты пыли были *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor* и *Penicillium*.

Проведенные нами исследования показали, что эти роды доминируют также и в структуре микобиоты жилых и промышленных помещений, исключение составляет род *Mucor*, который был выделен только с поверхности деревянного пола кухни в жилой квартире, гораздо чаще, особенно с поверхности бумажных обоев выделялся *Rhizopus arrhizus*.

Нами также было отмечено, что в промышленных (производственных) помещениях, где часто бывают температурные колебания, отмечается высокая влажность, наличие производственной пыли и отходов производства приводят к обильному развитию грибов и повреждению ими покрытий стен и потолков в основном грибами родов *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* и *Trichoderma* (табл.).

Причем в местах приема пищи наиболее часто идентифицируется: *Acremonium butyri*, *Aureobasidium pullula*, *Cladosporium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma viride* и *Verticillium lecanii*. В цокольных и подвальных помещениях: *Acremonium butyri*, *Aspergillus candidus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. ustus*, *C. oxysporum*, *C. herbarum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma hamatum* и *T. viride*. В офисных помещениях в условиях работающих кондиционеров было установлено, что наиболее часто встречаются грибы таких родов как *Aspergillus*, *Cladosporium* и *Penicillium*.

Исследования, проведенные по г. Минску [5], также показали, что наиболее частыми контаминантами воздуха внутри помещений

## Видовой состав грибов производственных и жилых помещений

Виды	Место* отбора проб	% встре- чаемости
<i>Acremonium butyri</i> (J.F.H. Beuma) W. Gams	пп/кв	35,0
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	пп/кв	30,0
<i>Absidia spinosa</i> Lendn.	кв	1,8
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	пп/кв	70,0
<i>Aspergillus candidus</i> Link	пп/кв	15,2
<i>A. flavus</i> Link	пп/кв	10,3
<i>A. fumigates</i> Fres.	пп/кв	5,8
<i>A. glaucus</i> Link	пп/кв	4,2
<i>A. niger</i> Tiegh.	пп	9,8
<i>A. terreus</i> Thom.	пп/кв	15,6
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	пп/кв	4,5
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church	пп/кв	6,8
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud	пп/кв	4,6
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) de Vries	кв	9,5
<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link: Gray	пп/кв	65,5
<i>C. oxysporum</i> Berk. & M.A. Curtis	пп/кв	68,5
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	пп/кв	1,8
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl.	кв	0,9
<i>Humicola grisea</i> Traaen	кв	1,2
<i>Mucor racemosus</i> Fresen.	кв	1,5
<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	кв	1,2
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	пп/кв	37,2
<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx	пп/кв	35,5
<i>Penicillium chrysogenum</i> (Thom)	пп/кв	40,6
<i>Penicillium decumbens</i> Thom	кв	18,6
<i>Penicillium expansum</i> Link	пп/кв	45,3

пп – производственные помещения; кв – жилая квартира

были грибы *Penicillium* и *Aspergillus*, реже встречались *Cladosporium*, *Stemphylium*, *Rhizopus* и *Alternaria*.

При обследовании жилых помещений, было отмечено, что видовой состав и структура грибов зависят от времени постройки дома, материалов использованных при их строительстве. В новых домах панельного типа, где наиболее часто намокают торцевые стены и стыки, создаются благоприятные условия для колонизации их грибами, в основном *Alternaria*, *Cladosporium* и *Penicillium*, причем замечено, что данные роды являются «пионерами» заселения, с течением времени к ним добавляются и другие рода грибов *Acremonium*, *Aspergillus*, *Stachybotrys* и *Ulocladium*. Наибольшее «видовое разнообразие» наблюдается в квартирах домов 60–80 гг. Вне зависимости от времени постройки дома при неправильной установке или эксплуатации пластиковых окон, на них поселяются грибы родов *Alternaria*, *Cladosporium* и *Ulocladium*, приводя к значительной порче резиновых утеплителей и поверхности рам. В ваннных комнатах помимо основных родов грибов часто встречаются гигрофилы родов *Acremonium*, *Humicola*, *Rhizopus* и *Trichoderma*.

Анализ структуры комплекса грибов жилых и промышленных помещений показывает, что по видовому разнообразию преобладают роды *Aspergillus* и *Penicillium*, но по степени доминирования и встречаемости в микобиоте помещений основными являются представители родов *Cladosporium* и *Alternaria*.

### Список литературы

1. Паттерсон Р., Грэммер Л.К., Гринберггер П.А. Аллергические болезни. Диагностика и лечение. М.: ГЭОТАР Медицина, 2000.
2. Dennis DP. Chronic sinusitis: defective T-cells responding to superantigens, treated by reduction of fungi in the nose and air. Arch Environ Health. 2003; 58(7): 433-41.
3. Ross MA, Curtis L, Scheff PA et al. Association of asthma symptoms and severity with indoor bioaerosols. Allergy. 2000; 55: 705-11.
4. Петрова-Никитина А.Д., Мокеева В.Л., Желтикова Т.М. и др. Микобиота домашней пыли г. Москвы. Микол. фитопатол. 2000. 34(3): 25-32.
5. Щербинская И.П., Дудчик Н.В., Кравцова В.В. и др. Оценка микобиоты жилых помещений г. Минска. Совр. пробл. гигиены, радиац. и экол. мед. Гродно: ГрГМУ, 2014: 317-20.



## **Глава 6**

---

# **Новые и молекулярные методы диагностики МИКОЗОВ**

## **Chapter 6**

---

# **From fungal molecules towards novel diagnostic tools**

## НОВЫЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ МИКОЗАМИ

Беленюк В.Д.<sup>1</sup>, Савченко А.А.<sup>1</sup>, Борисов А.Г.<sup>1</sup>,  
Квятковская С.В.<sup>2</sup>, Решетников И.В.<sup>2</sup>, Цейликман В.Э.<sup>2</sup>,  
Анисимова Е.Н.<sup>3</sup>, Зорин А.Н.<sup>3</sup>, Катцына Г.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинских проблем  
Севера, Красноярск

<sup>2</sup>Клиника Южно-Уральского ГМУ Минздрава России, Челябинск

<sup>3</sup>Красноярский краевой кожно-венерологический диспансер №2,  
Красноярск

**Введение.** В настоящее время отмечается увеличение заболеваемости инвазивными и генерализованными формами микозов. Причиной роста частоты заболеваемости микозами определяют широкое применение иммунодепрессивной терапии, антибиотиков и ряда гормональных препаратов. [1]. Особого внимания заслуживает проблема микозов стоп с поражением ногтевых пластинок, которое наблюдается у 20–55% больных микозами, особенно среди жителей городов [2]. Но если эпидемиологические исследования в этой области достаточно глубокие и всесторонние, то иммунологических исследований поверхностных микозов на данном этапе явно недостаточно. Однако именно иммунная система, представленная большим количеством популяций различных клеток, способных эффективно противостоять возникающей угрозе, является главным средством борьбы с инфекцией в организме человека [3]. В стороне остался вопрос о подключении к процессу лечения иммуноактивной терапии. Одной из причин подобной ситуации является проблема своевременной диагностики состояния иммунной системы при различных формах микозов.

В последние годы широкое применение в этой области получил метод проточной цитометрии, основанный на принципе детекции окрашенных специфическими красителями антител, адгезированных на соответствующих рецепторах, как на поверхности, так и внутри клетки [4]. Один из основных преимуществ оценки клеточного состава крови методами проточной цитометрии является определение типов клеток, которые не могут быть идентифицированы с помощью стандартных морфологических методов дифференцировки. В рамках этого метода, недавно появившаяся методика Nematoflow, представленная американской компанией Beckman Coulter, выгля-  
а

дит особенно перспективной [5]. Будучи адаптированной под клинический анализ, методика является практически автоматической, за счет чего на много снижается вероятность ошибки оператора, выполняющего анализ. Этот метод сочетает в себе возможности автоматического гематологического анализатора, а также 5-цветной проточной цитометрии (Cytodiff: 5-цветов, 6-антител) [5].

**Цель исследования**– изучение состояния иммунной системы больных онихомикозами различной этиологии с использованием метода проточной цитометрии Nematoflow.

**Материалы и методы.** Иммунологическое исследование было проведено 42 больным с диагнозом «микоз». На основании дифференцировки возбудителя, пациенты были отнесены к трем группам: в 1 группу включили больных, возбудителями заболевания у которых являлись грибы рода *Candida* (n=20). 2 группу составили пациенты с дерматомицетами (n=12). В 3 группу вошли больные с бактериальными микозами (онихобактериоз) (n=10). В контрольную группу включены 24 практически здоровых человека (средний возраст – 29 лет). Пациенты с установленным диагнозом «микоз» проходили лечение на базе Красноярского краевого кожно-венерологического диспансера № 1. Все обследованные были проинформированы о проведении исследования и подтвердили свое желание участвовать, подписав информированное согласие установленного образца.

Гематологическое исследование крови проводилось на автоматическом анализаторе ХЕ-5000 (Sysmex). Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием цитометра «FC-500» (Beckman Coulter, США). Для окрашивания лимфоцитов использовали предварительно смешанный краситель (Cytodiff), который включает в себя следующие антитела: CD36-FITC, CD2-PE, CD294-PE, CD19-ECD, CD16-PC5 и CD45-PC7. Данная панель позволяет разделить лейкоциты на 16 популяций. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента «VersLyse» (Beckman Coulter, США). В каждой пробе анализировали не менее 50000 клеток. Оценка результатов анализа производилась автоматически благодаря специальному программному обеспечению (Beckman Coulter), а также автоматически настраиваемому протоколу, специально предназначенному для работы с красителем Cytodiff.

Статистический анализ проводили в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007). Описание выборок произ-

водили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C25 – C75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney U test).

**Результаты.** На основании проведенного исследования с использованием методики Nematoflow у пациентов с микозами, по сравнению с контрольной группой были выявлены количественные и качественные изменения в составе клеток иммунной системы. Значительному снижению во всех трех группах подверглись моноциты, а так же Т- и В- лимфоциты. Учитывая специфику выполняемых данными клетками функций, а именно борьбу с различной вирусной и бактериальной нагрузкой, снижение их количества в русле периферической крови может являться признаком общего ослабления организма и как следствие являться первопричиной развития заболевания (табл. 1).

В ходе исследования было показано что, несмотря на существенное снижение количества отдельных популяций клеток иммунной системы, процентное их соотношение осталось неизменным. В сравнении с Т-лимфоцитами, количество В-лимфоцитов изменялось более выражено. Об этом наглядно свидетельствует снижение клеток предшественников В-лимфоцитов, что указывает на замедление процессов обновления данной популяции лимфоцитов и характеризует недостаточность функционирования В-клеточной системы.

Помимо лимфоцитов, серьезным количественным и качественным изменениям подверглись моноциты. Установлено достоверное снижение общего количества моноцитов, как в процентном соотношении, так и их абсолютного количества. Важным фактором явилось изменение соотношения моноцитов в пользу классических, поскольку это указывает на активацию процессов фагоцитоза, активно задействованного в борьбе с грибковой инфекцией. Классические моноциты, составляют 90–95 % от всех моноцитов, на неклассические в норме приходится 5–10%. Клетки первого типа имеют более крупные размеры и более высокую плотность, чем вторые, им свойственна высокая фагоцитарная и бактерицидная активность, в связи с чем их рассматривают в роли предшественников воспалительных макрофагов. Клетки минорной популяции обладают относительно слабой фагоцитарной активностью, но эффективно презентуют антиген Т-лимфоцитам, и секретируют IFN $\alpha$ . Они рассматриваются в качестве предшественников резидентных макрофагов [4, 5].

Сравнение групп с различными микозами показало, что в группе больных бактериальными микозами достоверного снижения

Таблица 1 Содержание лимфоцитов и моноцитов у больных различными формами микозов (Ме, С25 – С75)

Показатели	Контроль n = 24	Группа 1 n = 20	Группа 2 n = 12	Группа 3 n = 10
Лимфоциты, %	37,9 33,3-44,4	33,5 28,2-39,6	35,7 25,8-41	33,8 32,2-35,3
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	2,22 1,88-2,62	1,77* 1,53-2,11	1,67* 1,32-1,99	1,55* 1,44-2,01
Т-лимфоциты, %	74 72-76,5	76,1 67,4-84,2	76,2 73,5-80,9	77 73,3-84,9
Т-лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	1,72 1,37-2,06	1,28* 1,15-1,59	1,20* 0,95-1,39	1,30* 1,12-1,51
В-лимфоциты, %	11,4 10,1-13,6	7,2 4,3-13,7	11,5 6,2-12,9	7,5* 3,5-12,5
В-лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,26 0,21-0,32	0,13* 0,08-0,26	0,18* 0,10-0,24	0,10* 0,05-0,23
предВ- лимфоциты, %	0,05 0,03-0,07	0,02* 0,01-0,03	0,02* 0,01-0,03	0,01* 0,01-0,05
предВ- лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,001 0,0005-0,001	0,0003* 0,0002- 0,0006	0,0003* 0,0001- 0,0004	0,0002* 0,0001- 0,0006
Моноциты, %	8,8 7,5-9,8	6,5*• 4,7-8,2	6,8*• 5,3-7,7	9,1 7,2-9,7
Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	0,52 0,44-0,59	0,34* 0,26-0,50	0,34* 0,28-0,39	0,39* 0,33-0,48
Моноциты классические, %	93,4 91,1-95,4	96,3* 95,2-98	97,4* 94,9-97,7	96,9* 95,1-97,8
Моноциты 10 <sup>9</sup> /л классические	0,48 0,40-0,56	0,32* 0,22-0,45	0,32* 0,28-0,37	0,38* 0,30-0,45
Моноциты, % неклассические	6,5 4,5-8,9	3,6* 1,9-4,8	2,6* 2,2-5	3* 2,1-4,8
Моноциты 10 <sup>9</sup> /л неклассические	0,02 0,02-0,04	0,01* 0,005-0,01	0,007* 0,006-0,01	0,01* 0,007-0,02

Примечание: \* – сравнение групп с контролем ( $p < 0,05$ ); • – сравнение с онихобактериозом ( $p < 0,05$ ).

процентного содержания моноцитов относительно контрольной группы зафиксировано не было. Более того, процентное содержание моноцитов в группе с бактериальными микозами достоверно выше, чем в группах с заболеваниями вызванными грибами рода *Candida* и дерматомицетами. Становится очевидным общее системное истощение защитных ресурсов организма, на которое указывает снижение количества практически всех популяций клеток, активно задействованных в иммунном ответе.

**Выводы.** В ходе исследования было установлено снижение количества лимфоцитов и моноцитов в периферической крови больных микозами. Предположительно причиной подобной картины является общее снижение активности иммунной системы. Согласно литературным данным, подобная картина чаще наблюдается у людей, в недавнем времени перенесших какое-либо серьезное заболевание, либо страдающих хроническими болезнями на протяжении многих лет. В большинстве литературных источников четко указывается на то, что лишь изначально истощенный организм подвержен заражению грибковыми инфекциями, причины же подобного истощения всегда индивидуальны. В ходе наших исследований удалось полностью подтвердить существующую модель возникновения и распространения микозов.

### Список литературы

1. Каминский Ю.В., Тимошенко В.С., Полушин О.Г., Колесников В.И. Инвазивные и генерализованные микозы. Тихоокеанский мед. журн. 2007; 4: 50-3.
2. Салимов Б.М. Эпидемиология, некоторые вопросы патогенеза и совершенствования терапии онихомикоза: Автореф. ... дис. канд. мед. н. Душанбе. 2009: 24.
3. Борисов А.Г. Кластерный анализ типов иммунных нарушений при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Росс. иммунол. журн. 2014; 8(4): 1002-11.
4. Борисов А.Г. Клиническая характеристика нарушения функций иммунной системы. Мед. иммунол. 2013;15(1): 45-50.
5. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Проточная цитометрия как современный метод анализа в биологии и медицине. Мед. иммунол. 2007; 9(4-5): 373-8.

## СИНТЕТИЧЕСКИЕ ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ ЛИГАНДЫ, РОДСТВЕННЫЕ МИКОПОЛИСАХАРИДАМ – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ СПЕЦИФИЧНЫХ МИКОДИАГНОСТИКУМОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Нифантьев Н.Э., Крылов В.Б., Цветков Ю.Е.,  
Карелин А.А., Юдина О.Н., Яшунский Д.В.,  
Комарова Б.С., Орехова М.В., Генинг М.Л.

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

Микопатогены *Candida* ответственны приблизительно за 15% всех внутригоспитальных инфекций и более чем 72% всех внутригоспитальных микозов, причем смертность от инвазивных кандидозов достигает 40% [2]. Известно, что при запоздалом лечении смертность достигает 90-100%, в то время как обнаружение заболевания до первых клинических проявлений позволяет существенно снизить этот показатель [1].

Существующие диагностические тесты на наличие инвазивных микозов неспецифичны и клиницисты вынуждены принимать решения, основываясь, прежде всего на высоком индексе риска развития заболевания. Сказанное обосновывает острую необходимость разработки новых диагностических тест-систем, характеризующихся необходимыми чувствительностью и специфичностью.

Обнадеживающие данные были получены при использовании новых серологических диагностических тестов, позволяющих обнаруживать определенные антигены гриба в биологических жидкостях пациента. На настоящий момент существуют диагностикумы аспергиллёза, основанные на детектировании галактоманна на клеточной стенке *A. fumigatus* [3], а также тест на инвазивные микозы у людей, позволяющий измерять концентрацию  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-глюкана, который содержится в клеточной стенке большинства грибов [4]. Таким образом, углеводные антигены разных типов, представленные на поверхности клеточной стенки патогенных грибов, являются удобной основой для создания новых востребованных тест-систем для диагностирования различных микозов.

Недостаточная эффективность современных иммуноферментных тест-систем связана с тем, что используемые в них антитела индуцированы при иммунизации клеточными культурами и распознают эпитопы, точная структура которых детально не известна.

Для преодоления этого ограничения представляется перспективным использование гликоконъюгатов на основе синтетических углеводных лигандов строго определённого строения и отражающих определённые участки цепей микополисахаридов в качестве иммуногенов для иммунизации. Ранее углеводные лиганды указанных типов были ограничено доступны. В последние годы нами разработаны эффективные подходы для стереоспецифичного синтеза олигосахаридных лигандов [5–9], отражающих различные участки цепей основных типов микополисахаридов. Это снимает указанное выше ограничение.

В данном сообщении рассмотрены основные типы синтезированных спейсерированных олигосахаридных лигандов, а также их использование для получения конъюгатов с молекулярными метками, белковыми и синтетическими полимерными носителями. Разработанные препаративные методики синтеза позволяют получать олигосахаридные лиганды, построенные из необходимых типов моносахаридных звеньев и содержащие требуемые виды межзвеньевых связей. В частности, были получены антигенные олигосахариды, отвечающие фрагментам  $\beta$ -глюканов (линейных и разветвлённых – см. в качестве примеров структуры А и Б на рис. на след стр),  $\alpha$ -глюкана (В)  $\alpha$ - и  $\beta$ -маннана (например лиганд Г), галактоманнана (Д), хитина (Е) и другие типы лигандов [5–9].

Синтезированные биомолекулярные системы [10] (гликоконъюгаты) на основе полученных спейсерированных олигосахаридов [5–9] широко использованы в иммунологических исследованиях, в частности, для генерации антител и изучения их специфичности по отношению к соответствующим микопатогенам. Например, с использованием синтезированного конъюгата  $\alpha$ -(1→3)-глюкана (В на рис. 1) с БСА были проведены серии иммунизаций животных, в которых варьировалась дозировка иммуногена и режим иммунизации. Полученные сыворотки были использованы для иммунофлюоресцентного окрашивания клеточной стенки *A. fumigatus*. Специфичность полученных поликлональных антител по отношению к  $\alpha$ -глюкану была подтверждена с использованием Dags мутанта, клеточная стенка которого лишена данного компонента. В этом случае окрашивания не наблюдалось. Кроме того, инкубирование антител с  $\alpha$ -(1→3)-глюканом также блокировало окрашивание, что дополнительно подтверждает специфичность полученных при иммунизации антител к  $\alpha$ -глюкану [9].

**Вывод.** Синтетические углеводные лиганды, отвечающие различным типам грибковых полисахаридов, являются удобной ос-

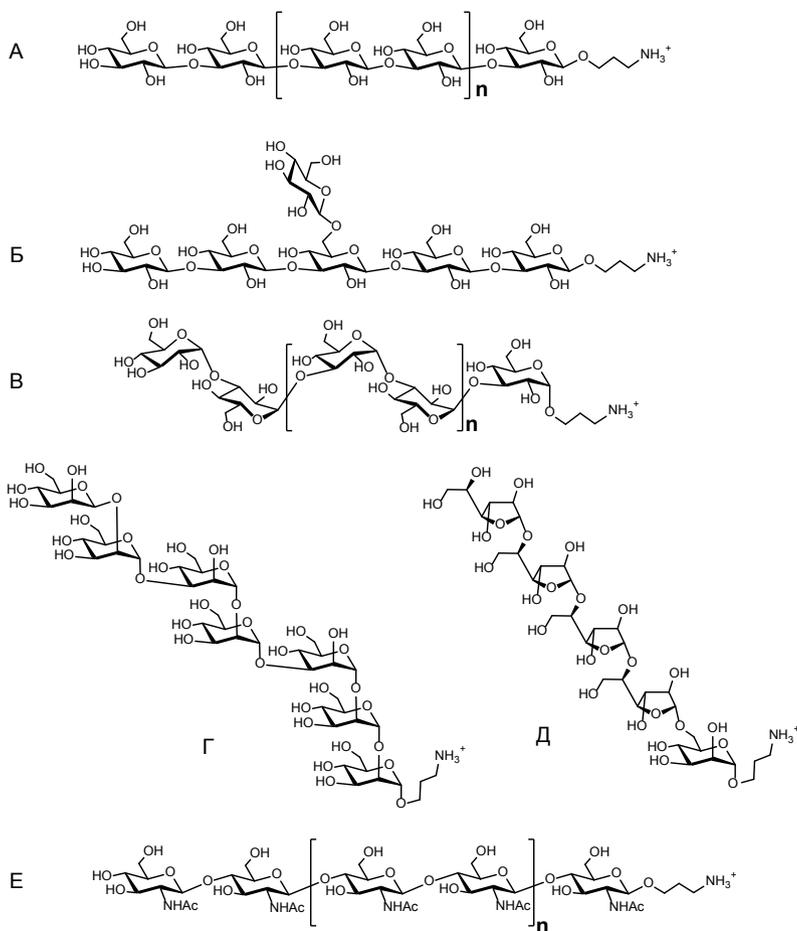


Рис.1. Примеры синтезированных олигосахаридных лигандов, родственных различным типам полисахаридов клеточной стенки грибов, включая  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюкан с линейными (А,  $n = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ ) и разветвленными (в качестве примера показан гексаглюкозид Б) цепями;  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-глюкан (В,  $n = 0, 1, 2, 3, 4$ ); маннан, содержащий  $\alpha$ - и  $\beta$ -маннозилные звенья (в качестве примера см. гептаманнозид Г); галактоманнан (Д); хитин (Е,  $n = 0, 1, 2$ ).

новой для создания новых высокоэффективных диагностикумов микопатогенов, причем не только для клинической диагностики, но и для контроля заражений продуктов питания, техногенных объектов, экологического мониторинга и других применений.

*Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФ №14-50-00126.*

### Список литературы

1. Latgé JP. Clin Microbiol Rev. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. 1999; 12: 310-50.
2. Leroy O, Gangneux JP, Montravers P et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: a multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). Crit Care Med. 2009; 37: 1612-8.
3. Cattiaux L, Sendid B, Collot M et al. Synthetic biotinylated tetra  $\beta(1\rightarrow5)$  galactofuranoside for in vitro aspergillosis diagnosis. Bioorg Med Chem. 2011; 19: 547-55.
4. Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E et al. Beta-D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. Clin Infect Dis. 2004; 39: 199-205.
5. Krylov VB, Argunov DA, Vinnitskiy DZ et al. Pyranoside – into-furanoside rearrangement: new reaction in carbohydrate chemistry and its application in oligosaccharide synthesis. Chemistry. 2014; 20(50): 16516-22.
6. Argunov DA, Krylov VB, Nifantiev NE. Convergent synthesis of isomeric heterosaccharides related to the fragments of galactomannan from *Aspergillus fumigatus*. Org Biomol Chem. 2015; 13(11): 3255-67.
7. Karelin AA, Tsvetkov YE, Paulovičová L et al. Synthesis of a heptasaccharide fragment of the mannan from *Candida guilliermondii* cell wall and its conjugate with BSA. Carbohydr Res. 2009; 344: 29-35.
8. Paulovičová E, Paulovičová L, Pilišiova R et al. Synthetically prepared glycooligosaccharides mimicking *Candida albicans* cell wall glycan antigens – novel tools to study host-pathogen interactions. FEMS Yeast Res. 2013; 13: 659-73.
9. Komarova BS, Orekhova MV, Tsvetkov YE et al. Synthesis of a pentasaccharide and neoglycoconjugates related to fungal  $\alpha(1\rightarrow3)$ -glucan and their use in the generation of antibodies to trace *Aspergillus fumigatus* cell wall. Chemistry. 2015; 21: 1029-35.
10. Ananikov VP, Khokhlova EA, Egorov MP et al. Organic and hybrid molecular systems. Mendelev Commun. 2015; 25: 75.

## ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ВНУТРЕННЕМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ

Орадова А.Ш., Сапаргалиева А.Д., Иманбаева Ж.А.  
Казахский НМУ имени С.Д. Асфендиярова, Алматы

Эндометриоз является одной из наиболее актуальных проблем современной гинекологии. И хотя многие вопросы решены, актуальность изучения проблемы эндометриоза не снижается [1].

Цель: оценить микрофлору слизистой эндометрия 58 у больных женщин репродуктивного возраста.

**Материалы и методы.** Исследованы образцы из биоптатов внутреннего слоя матки у 58 женщин репродуктивного возраста г. Алматы, выделили ДНК с помощью ПЦР в режиме реального времени. ПЦР-анализ проводили с использованием тест-системы АО "ДНК-Технология", Москва, в термоциклере "ДТ-322". Режим амплификации после внесения минерального масла составлял: денатурация –94 °С, 35 сек; отжиг –60 °С, 25 сек; синтез –72 °С, 35 сек (всего 45 циклов)[2].

**Результаты исследования.** В скрининге участвовали 58 женщин репродуктивного возраста г. Алматы в рамках принятой Программы развития онкологической помощи на 2012–2016 гг. В результате проведенных исследований биоптатов внутреннего слоя матки 58 пациентов с заболеванием внутреннего эндометриоза, было обнаружено, что наиболее часто среди идентифицированных микроорганизмов в образцах регистрировались грибы рода *Candida* – 86%. Также выявлялись урогенитальные микоплазмы *Mycoplasma (hominis+genitalium)* и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)*, соответственно в 10 и 4% случаев.

**Вывод.** Установлено что, особенностью внутреннего эндометриоза, помимо его малосимптомности и высокой частоты осложнений, относится часто встречающаяся ассоциация с другими возбудителями урогенитальных инфекций.

### Список литературы

1. Киселев В.И., Дмитриев Г.А., Латыпова М.Ф. Полимеразная цепная реакция в диагностике урогенитальных инфекций. М. 2000: 166 с.
2. Тихомиров А.Л., Сарсания С.И. Комплексное лечение смешанных генитальных инфекций. Гинекология. 2004; 6(6): 289–92.

## ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ *CANDIDA* spp.: ДНК-СЕКВЕНИРОВАНИЕ И MALDI-TOF МАСС- СПЕКТРОМЕТРИЯ

Рауш Е.Р., Васильева Н.В., Богомолова Т.С.  
НИИ медицинской микологии имени П.Н. Кашкина,  
СЗГМУ имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

**Введение.** Микромицеты рода *Candida* из состава нормальной микробиоты тела человека могут быть возбудителями внутрибольничного инвазивного кандидоза. По данным международного общества Leading International Fungal Infection (LIFE) ежегодно в мире выявляют до 300000 пациентов с внутрибольничным инвазивным кандидозом из которых 100000 больных умирают. Известно, что лишь у 50 – 75% больных ИК удается выявить *Candida* spp. при посевах крови. Даже в случаях, когда удается выделить культуру *Candida*, большинство используемых в микробиологической лаборатории методов видовой идентификации дрожжей обеспечивают получение результата только через 2 сут и более.

**Цель исследования** – сравнение методов видовой идентификации возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза и выявление наиболее эффективного для применения в рутинной практике.

**Материалы и методы.** Видовую принадлежность установили для 97 штаммов *Candida* spp., выделенных от больных инвазивным кандидозом. Исследуемые изоляты были обнаружены в образцах периферической крови и других в норме стерильных биосубстратах при посеве на питательные среды. Для определения видов штаммов *Candida* spp. использовали суточные культуры гриба, выращенные на агаре Сабуро при 37 °С (в случае *C. lipolytica* – при 28 °С) [1]. Идентификация до вида была проведена референтным методом – ДНК-секвенирование, в соответствии с международным протоколом CLSI MM18-A, время определения вида одного штамма *Candida* spp. – 48 ч [2, 3]; методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе «Autoflex speed» TOF/TOF с программным обеспечением MALDI Biotyper 3.1 (Bruker, Германия) в соответствии с инструкцией производителя [4], время определения вида одного штамма *Candida* spp. – 15 мин.

**Результаты.** По результатам исследования 97 штаммов методом ДНК-секвенирования было определено 9 видов *Candida*, среди которых *C. albicans* – 50,5%, другие виды *Candida* – 49,5% (*C. parapsilosis*

– 14,4%, *C. tropicalis* – 12,4%, *C. glabrata* – 11,4%, *C. krusei* – 7,3%, *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. bracarensis*, *C. kefyr* – по 1,0 %).

По результатам видовой идентификации методом MALDI-TOF масс-спектрометрии были получены аналогичные результаты, таким образом, при сравнении результатов, полученных методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и ДНК-секвенирования обнаружено совпадение в 100% случаев (таблица ).

Результаты идентификации видов *Candida* spp. с помощью методов ДНК-секвенирования и MALDI-TOF масс-спектрометрии (n = 97).

ДНК- секвенирование	n	MALDI-TOF масс-спектрометрия	
		Верная ИД	Неверная ИД
<i>C. albicans</i>	49	49	0
<i>C. parapsilosis</i>	14	14	0
<i>C. tropicalis</i>	12	12	0
<i>C. glabrata</i>	11	11	0
<i>C. krusei</i>	7	7	0
<i>C. lipolytica</i>	1	1	0
<i>C. lusitaniae</i>	1	1	0
<i>C. bracarensis</i>	1	1	0
<i>C. kefyr</i>	1	1	0
Всего	97	97	0

Примечание. ИД – идентификация

**Заключение.** Так, в процессе видовой идентификации возбудителей внутрибольничного инвазивного кандидоза двумя методами была выявлена их полная сопоставимость. Были выявлены редкие виды *C. не-albicans*: *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. bracarensis*, *C. kefyr*.

Поскольку метод ДНК-секвенирования является дорогостоящим, трудоемким, продолжительным по времени и требующим специально обученного персонала методом, в настоящее время для рутинного применения в большинстве микробиологических лабораторий его не используют. В связи с высокой сопоставимостью

результатов MALDI-TOF масс-спектрометрии с референтным методом, а также быстрой диагностики данный метод может быть рекомендован для рутинного использования в микробиологических лабораториях.

### **Список литературы**

1. Аравийский Р.А., Васильева Н.В., Климко Н.Н. Диагностика микозов. СПб.: Изд. дом СПб МАПО, 2004: 186 с., ил
2. Михайлова Ю.В., Руднева М.В., Чилина Г. А. и др. Идентификация возбудителей микозов с помощью секвенирования ДНК. Пробл. мед. микол. 2013; 15(2): 105-6.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing; approved guideline. CLSI document MM18-A. 2008. – CLSI, Wayne, PA, USA.
4. MALDI Biotyper 3.1. User manual revision 1. Bruker Daltonics. Bremen. 2012: 212 p.

## МИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ ПРИ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Сарматова Н.И.

Сибирский федеральный университет, Красноярск

В настоящее время установлено, что на полторы сотни известных видов кандиды, приходится около 20 видов возбудителей кандидоза. Из них наиболее часто от больных выделяют 8 видов. Среди которых лидируют 4 вида: *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. albicans*. *Candida albicans*, являясь комменсалом многих теплокровных животных, в том числе и человека, входит в состав постоянной микрофлоры пищеварительного тракта. В полости рта *C. albicans* обнаруживают у 20 – 70% практически здоровых обследуемых [1]. Носительство *C. albicans* часто встречается у здоровых людей, еще чаще – при самой различной патологии. Инфекции, вызываемые *Candida albicans*, по природе эндогенные, источником являются колонии на собственных слизистых оболочках пациента. Во внешней среде *C. albicans* можно обнаружить в воде и почве, загрязненных экскрементами человека или животных, эти же грибы могут загрязнять пищевые продукты. *C. albicans* можно найти на коже рук. Такие носители могут стать источником экзогенной инфекции, особенно это касается медицинского персонала лечебно-профилактических учреждений.

Согласно литературным данным, при исследовании штаммов *Candida*, выделенных из разных локализаций у больных кандидозом и носителей, была определена их генетическая однородность с большим потенциалом изменчивости [2]

Считается, что *C. albicans* по патогенности превосходит остальные виды *Candida*. Вместе с тем *C. albicans* обладает наилучшей исходной чувствительности к противогрибковым препаратам, сохраняя при этом способность развивать устойчивость к ним при длительном лечении. Поэтому так необходима видовая идентификация дрожжевых грибов, выделенных от больных, у которых кандидозная инфекция является сопутствующей. Что было выполнено в наших исследованиях.

Среди всех non-*albicans* видов *Candida* доминирует *C. glabrata*. Этот входит в состав микрофлоры слизистых оболочек человека и по частоте выделения уступает только *C. albicans*, а иногда и превосходя его. *C. glabrata* вызывает преимущественно диссеминированные инфекции. На долю *C. glabrata* приходится 8% всех случаев

кандидемии у онкологических больных и 1–14% у прочих пациентов. Особое значение инфекции, вызванные *C. glabrata*, приобретают в связи с тем, что возбудители устойчивы к одному из главных препаратов, действующих на *Candida* – флуконазолу [3, 4, 5].

В состав микрофлоры слизистых оболочек человека, млекопитающих и птиц входит *Candida krusei*. Этот вид в колонизации полости рта составляет около 2–3%, кишечника – около 3–10%, влагалища – от 3 до 5%. Высокий процент колонизации отмечается у больных с лекарственной нейтропенией. Инфекции, которые вызывает *C. krusei* –эндогенные с предшествующей колонизацией слизистых оболочек [4, 5]. Во внешней среде *Candida krusei* можно обнаружить в воде и почве (в частности, загрязненных экскрементами). *Candida krusei* выделяли из молочных продуктов, пива и солода, фруктовых соках. Описаны случаи внутрибольничного заражения. Описаны случаи кандидоза полости рта у больных ВИЧ-инфекцией. Как возбудитель глубокого инвазивного диссеминированного кандидоза вид *C. krusei* до недавнего времени уступал приведенным выше видам [6].

Относительно выделенного нами со слизистой оболочки полости рта аллергологических больных вида *C. tropicalis* следует заметить, что являясь комменсалом слизистых оболочек человека и животных, этот вид играет значительную роль в развитии глубокого инвазивного и диссеминированного кандидоза. Хотя на долю *C. tropicalis* приходится до 6 – 7%. Особое значение с позиций эпидемиологии имеет распространение этого вида, так как допускается временное (транзитное) носительство *C. tropicalis* на коже, в том числе на коже около естественных отверстий и на кончиках пальцев. Описаны случаи передачи *C. tropicalis* с последующим развитием глубокого кандидоза через руки медицинского персонала и инструменты [7]).

Во внешней среде *C. tropicalis* можно обнаружить в воде и почве, загрязненных экскрементами человека и животных, а также в морской воде. *C. tropicalis* загрязняет мясо, молочные и морепродукты. Следует отметить факты загрязнения парентеральных растворов с последующем развитием диссеминированной инфекции в лечебно-профилактических учреждениях [7]

Наибольшее число пациентов, из мокроты которых выделялись дрожжеподобные грибы, были из отделений: гематологического – 55,88%, пульмонологии – 51,35%, аллергологии – 66,67%. На слизистой оболочки полости рта дрожжеподобные грибы встречались у больных отделений: аллергологического – в 33,75%, гематологического отделения – в 64,25%, пульмонологического – 81,82%.

Как показала видовая идентификация, наиболее часто встречались виды *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*. Реже виды: *C. parapsilosis*, *C. famata*, *C. quillermondii*.

Серьезной проблемой медицины является кандемия. Это грибковая форма возникает у различной категории больных и характеризуется тяжестью клинических проявлений и высокой летальностью.

В 2013–2014 гг. из крови пациентов был выделен 21 штамм дрожжеподобных грибов. В результате проведенной идентификации все штаммы были отнесены к виду *C. albicans*. В 72,8% случаев выделенные изоляты были устойчивы к препаратам из группы азолов – миконазол и итраконазол. К флуконазолу, амфотерицину отмечали чувствительность у всех изолятов.

### Список литературы

1. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. М.: Бином, 2008: 480 с.
2. NACHEM R, HANNA H, KONTYOIANNIS D et al. The changing epidemiology of invasive candidiasis: *Candida glabrata* and *Candida krusei* as the leading causes of candidemia of hematologic malignancy. *Cancer* 2008; 112(11): 2493-9.
3. Блохина Е.В., Грачева А.Н., Кравченко С.К. и др. Факторы, оказывающие влияние на излечение при кандемии у больных опухолями системы крови. *Усп. мед. микол.* 2013; 11: 75-8.
4. Кирсанова М.А., Криворучченко Ю.Л., Мясникова О.Н. и др. Чувствительность к антимикотикам грибов рода *Candida*, выделенных в 2000–2008 гг. в г. Симферополе. *Усп. мед. микол.* 2013; 11: 95-96.
5. Лахтин В.М., Байракова А.Л., Лахтин В.М. и соавт. Поведение в присутствии пробиотических лектинов. *Астрах. мед. ж.* 2011; 6: (3): 97-101.
6. Aly FZ, Blackwell CC, MacKenzie DA, Weir DM. Identification of oral yeast species isolated from individuals with diabetes mellitus. *Mycoses* 2005; 38(3-4): 107-9.
7. Gilfillan G.D. *Candida dublineensis*, phylogeni and putative virulence factor. *Microbiology* 2008; 144: 829-38.

## СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ГЕНОДИАГНОСТИКИ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ, МЕТАГЕНОМИКЕ И МИКОЛОГИИ

*Щербо С.Н., Щербо Д.С., Сергеев А.Ю.<sup>1</sup>*

*РНИМУ имени Н.И. Пирогова, Москва*

*<sup>1</sup>МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва*

К началу XX века стало ясно, что организм человека – сложная экосистема, включающая триллионы микроорганизмов, грибов, вирусов. Дж. Ледерберг для обозначения всего генетического материала, содержащегося в микробиоте кишечника человека, ввел термин «микробиом», численность генов которого на 3 порядка выше, чем генов организма человека. Микроорганизмы, вирусы, грибы заселяют желудочно-кишечный тракт человека, слизистую ротовой полости, носа и других органов, живут на коже.

В наши дни начался «метагеномный» период в развитии молекулярной эпидемиологии и персонализированной медицины, который позволяет определять всю совокупность геномов микроорганизмов, вирусов, грибов и др. в исследуемом образце и перейти от определения отдельных патогенов к характеристике полного спектра инфекционных агентов в клиническом материале.

Геномный подход связан и с возникновением понятий «пангеном» вида (полный набор генов, присущих виду), «резистом», «токсом», «вирулом» (комплексы генов, ответственных за резистентность, токсикогенность и антибиотикорезистентность) и т.д. Для внедрения метагеномной технологии в медицинскую практику необходимо определить пангеномы микроорганизмов, грибов наиболее актуальных видов, построить геномную номенклатуру штаммов, построить геномные и метагеномные базы данных, определить значение геномных полиморфизмов и предрасположенностей человека к инфекционным заболеваниям. Применительно к микологии возможно, по нашему мнению, использование понятия «миком», характеризующий всю совокупность генов грибов.

Метагеномика человека (термин впервые использован в 1998 г. Хандельсманом с соавт.) занимается сравнением бактериальных сообществ организмов людей разного возраста и состояния здоровья, позволяя установить, каким образом микроорганизмы предотвращают или повышают риск развития определенных заболеваний, возможные методы управления этими механизмами. При реализа-

ции метагеномных подходов после выделения нуклеиновых кислот все сообщество патогенов (бактерии, вирусы, простейшие, грибы), которые присутствуют в исследуемом образце, анализируется с применением генетических технологий (амплификация, секвенирование и др.) после чего с помощью биоинформационных методов происходит компьютерная сборка генов и реконструируется полный набор геномов в образце. Идентификация может быть выполнена на разную таксономическую глубину (до семейства, рода, вида, клона и др.), а результат выразить в виде дендрограммы, диаграммы или таблицы с содержанием ДНК или РНК таксонов, идентифицированных в образце [1].

Миком может изучаться различными методами лабораторной диагностики, не только традиционным культуральным, но и с использованием современных генетических технологий: амплификационных (включая ПЦР) и гибридизационных методов, секвенирования нуклеиновых кислот с использованием подходов нового поколения (NGS). Последний подход является перспективным и позволит в ближайшем будущем проводить скрининговые массовые исследования большого количества образцов, обработку массивов данных и создание баз данных по эпидемиологии и, в частности, микологии, а также осуществлять крупные международные проекты.

Наиболее широкое применение для анализа геномов грибов получила технология ПЦР с детекцией в режиме реального времени (ПЦР РВ). Первым успешным опытом применения генодиагностики в микологии стал разработанный и внедренный нами в практику работы лабораторий набор «ТрифАм» [2]. С помощью указанного мультиплексного набора методом ПЦР можно определять два вида возбудителей онихомикозов: *Trichophyton rubrum* и *Tr. mentagraphites* (var. *interdigitale*). Применение генетических технологий дает возможность значительно повысить специфичность и чувствительность анализа и разрабатывать новые наборы реагентов [3].

### Список литературы

1. Дьяков Ю.Т., Шнырева А.В., Сергеев А.Ю. Введение в генетику грибов. М.: Академия. 2005
2. Сергеев В.Ю., Сергеев А.Ю. Гены, молекулярные методы и новые концепции в диагностике грибковых заболеваний. Пробл. мед. микол. 2006; 8(2): 85.
3. Сергеев А.Ю., Богуш П.Г., Земляная Н. Ю. и др. Первый опыт прямой ПЦР диагностики дерматофитии ногтей. Усп. мед. микол. 2004\$ 3: 339-342.

## БРОНХОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ГРИБКОВЫХ КОЛОНИЗАЦИЙ ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ И АЛЬВЕОЛИТОМ ЛЕГКИХ

Сивокозов И.В., Ловачева О.В., Шумская И.Ю.,  
Шмелев Е.И., Черноусова Л.Н., Ларионова Е.Е.  
ЦНИИТ, Москва

**Введение.** Широко распространенные в окружающей среде грибы рода *Candida* и *Aspergillus* являются мощными аллергенами, которые могут влиять на характер течения и прогноз диффузных болезней легких, при этом не являясь их этиологическим фактором. Вместе с тем, крупных исследований, оценивавших частоту встречаемости этих грибов при диффузных заболеваниях легких, равно как и влияние носительства грибов на их клинико-функциональные проявления, до сих пор не проводилось.

**Цель исследования** – определить частоту выявления носительства грибов у пациентов с различными диффузными поражениями легких и их влияние на некоторые клинические проявления заболеваний.

**Материалы и методы.** В исследование последовательно включались пациенты с установленными диагнозами саркоидоза органов дыхания и альвеолитов различной этиологии, которым в ходе диагностического поиска проводилось бронхологическое обследование с обязательным забором бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), а также трансbronхиальной биопсии легочной ткани. В дальнейшем аликвоты БАЛ анализировались с помощью сертифицированных коммерческих наборов для полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления ДНК грибов *S. albicans* (ПЦР в реальном времени) и *A. fumigatus* (по данным электрофореза).

**Результаты.** Всего в исследование было включено 129 пациентов с саркоидозом органов дыхания, 90 пациентов с альвеолитами различного генеза, из них: 79 пациентов с экзогенными аллергическими альвеолитами, 5 пациентов с идиопатическим фиброзирующим альвеолитом, 6 пациентов с различными вариантами идиопатических интерстициальных пневмоний.

В группе саркоидоза органов дыхания общая частота выявления ДНК грибов составила 31/129 (24,03%), в группе ЭАА – 21/79 (26,58%).

Были проанализированы факторы, могущие оказывать влияние на частоту колонизации респираторного тракта грибами у указанных групп пациентов. Анализировались следующие параметры: пол, возраст, рост, вес, значение ИМТ, статус курения, срок течения заболевания, наличие и характер предшествующей терапии.

По результатам анализа было выявлено, что в группе саркоидоза аспергиллы выявлялись чаще у мужчин (14/22, или 63,6%), кандиды же, наоборот, чаще выявлялись у женщин (7/11, или 63,6%).

Также в данной группе при колонизации аспергиллами место достоверное повышение веса и индекса курения (84,5 кг и 6,3 п/лет соответственно) в сравнении с подгруппой без колонизации (76,1 кг и 2,3 п/лет соответственно).

В отличие от группы пациентов с саркоидозом, колонизация аспергиллами не приводила к каким-либо изменениям в анализируемых параметрах в сравнении с группой ЭАА. Одновременно с этим, колонизация кандидами сопровождалась достоверным повышением возраста и индекса курения в сравнении с подгруппой пациентов без колонизации грибами (56,6 г. и 11,6 п/лет для подгруппы ЭАА+кандида и 48,3 г. и 3,4 п/лет для подгруппы ЭАА, соответственно).

Также были проанализированы характеристики заболевания, характер предшествующей терапии среди пациентов с колонизацией респираторного тракта грибами и без таковой для объединенных данных группы саркоидоза органов дыхания.

Достоверных различий в длительности заболевания и частоте назначения кортикостероидной терапии между подгруппами отмечено не было. Вместе с тем, в подгруппе Саркоидоз+Аспергиллы отмечалась достоверно меньшая длительность предшествующей терапии в сравнении с подгруппой Саркоидоз (11,5 и 29,5 нед соответственно,  $p < 0,05$ ). Одновременно в той же подгруппе Саркоидоз+Аспергиллы была зафиксирована почти вдвое большая доза ГКС в случае назначения терапии, в сравнении с группой без колонизации грибами (31,7 и 18,3 мг/сут по преднизолону, соответственно). При этом кумулятивная доза ГКС за время курса терапии в пересчете на преднизолон для подгруппы Саркоидоз+Аспергиллы составила 364 мг, а для группы без колонизации составила 539 мг, различия между ними были достоверны. В отношении грибов рода *Candida* каких-либо достоверных отличий для анализируемых показателей отмечено не было. Вместе с тем стоит отметить, что случаев назначения кортикостероидной терапии пациентам в подгруппе Сар+кандида отмечено не было.

Длительность течения болезни для подгруппы ЭАА+Аспергиллы была достоверно большей в сравнении с подгруппой ЭАА (151 и 76 недель, соответственно,  $p < 0,05$ ). Однако при этом каких-либо достоверных различий в частоте назначения кортикостероидной терапии, либо в ее длительности или интенсивности ни для одной из подгрупп отмечено не было.

Резюмируя результаты анализа данных, можно заключить, что для пациентов с саркоидозом колонизация аспергиллами сопровождалась повышением массы тела и более высоким индексом курения, меньшей длительностью предшествующей кортикостероидной терапии с одновременно большей суточной дозировкой кортикостероидов в пересчете на преднизолон, однако меньшей кумулятивной дозой кортикостероидов в пересчете на преднизолон в сравнении с подгруппой без колонизации грибами. Колонизация же кандидами не приводила к каким-либо изменениям анализируемых показателей у пациентов данной группы.

У пациентов в группе ЭАА при колонизации грибами рода кандида отмечалось достоверное повышение возраста и индекса курения в сравнении с подгруппой ЭАА. В то же время, при колонизации аспергиллами отмечалось повышение длительности заболевания в сравнении с подгруппой ЭАА.

**Вывод.** В ходе исследования показано, что у значимой части пациентов с диффузными заболеваниями легких, такими как саркоидоз и альвеолиты различного генеза, имеет место грибковая колонизация терминальных отделов респираторного тракта, которая играет важную роль в определении клинико-функциональных и рентгенологических свойств указанных заболеваний, что требует дальнейших исследований.

**ULTRASTRUCTURAL INVESTIGATIONS OF THE  
YEAST→ HYPHAL CELL TRANSITION OF THE  
CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS VAR. GRUBII IN  
MURINE BRAIN**

<sup>1</sup>Stepanova A.A., <sup>1</sup>Vasilyeva N.V., <sup>2</sup>Yamaguchi M., <sup>2</sup>Shimizu K.,  
<sup>2</sup>Kawamoto S., <sup>1</sup>Bosak I.A.

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov NWMU Kashkin Research Institute of Medical  
Mycology, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chuo-ku,  
Chiba, Japan

The ultrastructural study on the switching from yeast to monokaryotic hyphal state in murine brain after 7 days of beginning experiments on the example *C. neoformans* var. *grubii* was carry out. It was revealed 2 stages in switching of mother yeast cell to hyphal one. In the first stage from content of mother cell in hyphal projection pass cytosole with free ribosomes, vesicles, small vacuoles, mitochondria and lipid inclusions. In the second stage of hyphal differrentiation (after appearance and subsequent divisions and increasing the number of nuclei), the synthesis of cytosole, free ribosomes, secretory vesicles, proliferation of mitochondria with fornation of giant organelle, synthesis of storage lipids, cell wall and capsule, apparently, pass without direct participation of yeast mother cell. The single interphase nuclei regularly distributed within the monokaryotic hyphae. At the first time, it was revealed, that the hyphal monokaryotic cells, simultaneously with mother yeast cells coated with polysaccharide capsule with identical structure, but thicker.

## ELECTRON MICROSCOPIC INVESTIGATIONS OF THE INTERACTIONS BETWEEN THE MURINE LUNG MACROPHAGES AND THE YEAST CELLS OF *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* STRAINS WITH DIFFERENT VIRULENCE

Stepanova A.A.<sup>1</sup>, Vasilyeva N.V.<sup>1</sup>, Yamaguchi M.<sup>2</sup>, Shimizu K.<sup>2</sup>, Kawamoto S.<sup>2</sup>, Bosak I.A.<sup>1</sup>, Filippova L.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov University Kashkin Research Institute of Medical Mycology, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Medical Mycology Research Center, Chiba University, Chuo-ku, Chiba, Japan

The ultrastructural patterns of interactions between the murine lung macrophages and the cells of low and high virulent strains of the *C. neoformans* after 7 days of experiments were presented in this article. During ingesting of the living fungal cells and in its subsequent phagosome stage, they may become free completely from their polysaccharide capsule whereupon their contents undergo lysis and the cell wall debris were expelled by way extrusion from alveolar macrophage (1st type of interaction); become free from their capsules only partly, destroyed the phagosomal plasmalemma and, subsequently, induce destructive processes inside alveolar macrophages, resulting of their death (2nd type of interaction); not to lose their capsule and they revealed inside the alveolar macrophages in a latent state (3rd type of interaction). Alveolar macro-phages may ingest the dyed and dead *C. neoformans* cells, which surrounded by the capsule (the 4th type of interaction); then the last one also step-to-step lose from the stage of ingesting and in phagosome condition. Ultimately, the remaining cell walls debris expelled from alveolar macrophages content. We revealed, that in all cases (excluding the cases of latent condition of fungal cells in macrophages) during the phagocytosis of the *C. neoformans* cells the macrophagal plasma membrane developed the systems of the tubules, in which the substance of capsular polysaccharide was transported and then accumulated within their lumen in the form of local extension, which then isolated into the macrophage cytosol as microvacuoles. In the phagosome, the system of the plasma membrane tubules, which surround the yeast cell in the form of "crown", the process of the capsular polysaccharide elimination continue. For the first time, we revealed the clear dependence of ultrastructural features of the flow of cell-mediated immunity in dependence of the stage of development of ingested *C. neoformans* yeast cells.

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ И ТАКСОНОМИИ МИКРОСПОРИДИЙ *MICROSPORIDIA BALBIANI* 1882 (OPISTHOKONTA: OPISTHOSPORIDIA)

Токарев Ю.С.

*ВНИИ защиты растений, Санкт-Петербург*

Микроспоридии – уникальная группа одноклеточных эукариот, характеризующаяся крайней минимизацией генома, клетки, метаболического аппарата и возложением большинства своих жизненных функций на клетку хозяина [1]. Многие виды этих паразитов имеют важное практическое значение как возбудители заболеваний вредных и полезных насекомых, промысловых и культивируемых видов беспозвоночных и позвоночных, а также человека [2].

В связи с этим особое значение приобретают проблемы достоверной диагностики и корректной идентификации изучаемых объектов, что практически невозможно без решения вопросов систематики, таксономии и номенклатуры. Это связано с изучением молекулярно-генетических особенностей, указывающих на родство микроспоридий с представителями царства Fungi в целом или его отдельных таксонов [3, 4]. Идея о включении типа *Microsporidia* в рамки царства Fungi, хоть и была преждевременной, закрепилась в ряде работ; стало обычной практикой указывать систематическую принадлежность микроспоридий к данному царству [5-7].

В то же время микроспоридии по-прежнему входят в компетенцию Зоологического, а не Ботанического кодекса, а последнее таксономическое решение предлагает объединение *Microsporidia* с двумя другими группами внутриклеточных паразитов – *Aphelidea* и *Cryptomycota* – рамками монофилетического надтипа *Opisthosporidia* за пределами царства Fungi [8]. В связи с тем, что внутриклеточные паразиты представляют собой криптические формы жизни, изучение биологического разнообразия многих из них находится на начальном этапе [9, 10], их систематика и таксономия разработаны в недостаточной степени [11].

В любом случае, уникальные свойства микроспоридий как внутриклеточных паразитов животных не позволяют рассматривать их как объект классической микологии [12, 27].

Что касается таксономического деления внутри типа *Microsporidia*, филогенетические реконструкции на основе данных о нуклеотидных последовательностях гена рРНК (в целом, соответ-

ствующие последующим филогеномным исследованиям), показали несостоятельность всех разработанных в прошлом веке систем [2, 13, 14], поскольку признаки, выбранные в качестве критериев для обоснования таксонов высокого ранга, оказались весьма лабильными, контрастно представленными у близкородственных форм [15, 16]. Деление пяти ветвей нового филогенетического дерева микроспоридий на три класса, предложенное авторами обзорной реконструкции, весьма условно [16]; особенно сомнительным выглядит объединение трех парафилетических ветвей (I, II и V) рамками одного класса *Aquasporidia*.

Некоторые из новых таксонов не укладываются в данную систему, их положение указывает на существование других, еще не изученных филогенетических линий [17, 18]. Накапливается всё больше работ, посвящённых описанию новых видов и обоснованию новых родов, в том числе на основании пересмотра ранее описанных форм, однако лишь в единичных случаях проводится выделение таксонов более высокого ранга, обычно не выше семейства [19, 20–22].

Существенный прогресс достигнут в отношении *Nosema*-подобных микроспоридий, для многих из которых установлена принадлежность к различным ветвям филогенетического дерева и описаны новые роды [19, 23–25]. В то же время, остается проблема корректной идентификации внутри группы видов *Nosema/Vairimorpha*. Эта группа составлена двумя существенно дивергировавшими филогенетическими линиями, занимающие сестринское положение по отношению друг к другу, каждая из которых содержит виды, которые по формальным признакам можно отнести к *Nosema* (простой жизненный цикл, одна спорогония) или к *Vairimorpha* (сложный жизненный цикл, две спорогонии). Поскольку ревизия, предпосылки для которой существуют уже 20 лет [15], до сих пор не проведена, продолжается описание новых видов с не вполне корректным определением родовой принадлежности [26].

Среди других проблем, касающихся систематики микроспоридий, стоит упомянуть, во-первых, наличие ряда близкородственных форм, имеющих очень тонкие межвидовые различия (что вносит дискуссионность в вопрос об их самостоятельности как видов), во-вторых, способность одного вида паразита заражать различных хозяев, что в прошлом способствовало неоправданному описанию новых таксонов на основе уже существующих.

*На решении этих проблем сосредоточена значительная часть усилий нашей научной группы по изучению микроспоридий на базе*

ФГБНУ ВИЗР [27-29] в рамках проектов, поддержанных РФФИ (13-04-00693, 14-04-91176, 15-04-01226) и Совета по грантам Президента РФ (МД-4284.2015.4).

### Список литературы

1. Senderskiy IV, Timofeev SA, Seliverstova EV. et al. Secretion of Antonospora (Paranosema) locustae proteins into infected cells suggests an active role of microsporidia in the control of host programs and metabolic processes. PLoS One. 2014; 9(4): e93585.
2. Исси И.В. Микроспоридии как тип паразитических простейших. Микроспоридии. Серия: Протозоология. 1986; 10: 6-135
3. Соколова Ю.Я. Происхождение микроспоридий и их положений в системе эукариот. Микол. фитопатол. 2009; 43: 177-92
4. Keeling P. Five questions about microsporidia. PLoS Pathog. 2009; 5(9): e1000489
5. Ovcharenko MO, Bacela K, Wilkinson T, et al. Cucumispora dikergammari n. gen. (Fungi: Microsporidia) infecting the invasive amphipod Dikergammarmus villosus: a potential emerging disease in European rivers. Parasitology. 2010; 137(2): 191-204
6. Sak B, Kvác M, Petrzalková K et al. Diversity of microsporidia (Fungi: Microsporidia) among captive great apes in European zoos and African sanctuaries: evidence for zoonotic transmission? Folia Parasitol (Praha). 2011; 58(2): 81-6
7. Capella-Gutiérrez S, Marcet-Houben M, Gabaldón T. Phylogenomics supports microsporidia as the earliest diverging clade of sequenced fungi. BMC Biol. 2012; 10: 47
8. Karpov SA, Mamkaeva MA, Aleoshin VV et al. Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. Front Microbiol. 2014; 5: 112
9. Jones MD, Forn I, Gadelha C et al. Discovery of novel intermediate forms redefines the fungal tree of life. Nature. 2011; 474(7350): 200-3
10. Ishida S, Nozaki D, Grossart HP, Kagami M. Novel basal, fungal lineages from freshwater phytoplankton and lake samples. Environ Microbiol Rep. 2015; doi: 10.1111/1758-2229.12268
11. Adl SM, Simpson AG, Lane CE. The revised classification of eukaryotes. J Eukaryot Microbiol. 2012; 59(5): 429-93
12. Vavra J, Lukes J. Microsporidia and 'the art of living together'. Adv. Parasitol. 2013; 82: 253-319
13. Новое в систематике и номенклатуре грибов. Ред. Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. М.: Нац. акад. микол., 2003: 496 с.

14. Sprague V, Becnel J, Hazard EI. Taxonomy of phylum Microspora. *Crit Rev Microbiol.* 1992; 18: 285-95
15. Baker MD, Vossbrinck CR, Maddox JV, Undeen AH. Phylogenetic relationships among *Vairimorpha* and *Nosema* species (Microspora) based on ribosomal RNA sequence data. *J Invertebr Pathol.* 1994; 64: 100-6
16. Vossbrinck CR, Debrunner-Vossbrinck BA. Molecular phylogeny of the Microsporidia: ecological, ultrastructural and taxonomic considerations. *Folia Parasitologica.* 2005; 52: 131-42
17. Haag KL, Larsson JI, Refardt D, Ebert D. Cytological and molecular description of *Hamiltosporidium tvaerminnensis* gen. et sp. nov., a microsporidian parasite of *Daphnia magna*, and establishment of *Hamiltosporidium magnivora* comb. nov. *Parasitology.* 2011; 138(4): 447-62
18. Sapir A, Dillman AR, Connon SA et al. Microsporidia-nematode associations in methane seeps reveal basal fungal parasitism in the deep sea. *Front Microbiol.* 2014; 5: 43
19. Canning EU, Refardt D, Vossbrinck CR et al. New diplokaryotic Microsporidia (Phylum Microsporidia) from freshwater bryozoans (Bryozoa, Phylactolaemata). *Eur J Protistol.* 2002; 38: 247-65
20. Stentiford GD, Bateman KS, Small HJ et al. *Myospora metanephrops* (n. g., n. sp.) from marine lobsters and a proposal for erection of a new order and family (Crustaceacida; Myosporidae) in the Class *Marinosporidia* (Phylum Microsporidia). *Int J Parasitol.* 2010; 40(12): 1433-46
21. Stentiford GD, Bateman KS, Feist SW et al. *Areospora rohanae* n.gen. n.sp. (Microsporidia; Areosporiidae n. fam.) elicits multi-nucleate giant-cell formation in southern king crab (*Lithodes santolla*). *J Invertebr Pathol.* 2014; 118: 1-11
22. Issi IV, Tokarev YS, Seliverstova EV, Voronin VN. Taxonomy of *Neoperezia chironomi* and *Neoperezia semenovaiae* comb. nov. (Microsporidia, Aquasporidia): lessons from ultrastructure and ribosomal DNA sequence data. *Eur J Protistol.* 2012; 48: 17-29
23. Sokolova YY, Issi IV, Morzhina EV et al. Ultrastructural analysis supports transferring *Nosema whitei* Weiser 1953 to the genus *Paranosema* and creation a new combination, *Paranosema whitei*. *J Invertebr Pathol.* 2005; 90: 122-6
24. Franzen C, Fischer S, Schroeder J et al. Morphological and molecular investigations of *Tubulinosema ratisbonensis* gen. nov., sp. nov. (Microsporidia: Tubulinosematidae fam. nov.), a parasite

- infesting a laboratory colony of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *J Eukaryot Microbiol.* 2005; 52: 141-52
25. Franzen C, Futerman PH, Schroeder J, Salzberger B, Kraaijeveld AR. An ultrastructural and molecular study of *Tubulinosema kingi* Kramer (Microsporidia: Tubulinosematidae) from *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) and its parasitoid *Asobara tabida* (Hymenoptera: Braconidae). *J Invertebr Pathol.* 2006; 91(3): 158-67
26. Yaman M, Bekircan Ç, Radek R, Linde A. *Nosema pieriae* sp. n. (Microsporida, Nosematidae): A new microsporidian pathogen of the cabbage butterfly *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Acta Protozool.* 2014; 53: 223-32
27. Токарев Ю.С., Воронин В.Н., Сендерский И.В., Исси И.В. Молекулярная филогения микроспоридии *Glugea gasterostei* Voronin 1974 (Microsporidia: Marinosporidia) из трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. 1758 (Actinopterygii: Gasterosteiformes). *Паразитология* (в печати).
28. Malysh JM, Kononchuk AG, Nurzhanov AA et al. Morphological and genetic diversity of microsporidia infecting beet webworm *Loxostege sticticalis* L. (Pyraloidea: Crambidae) in Russia. *Eurasian Entomol J.* 2013; 12(6): 543-8
29. Tokarev YS, Malysh JM, Kononchuk AG et al. Redefinition of *Nosema pyrausta* (*Perezia pyraustae* Paillot 1927) basing upon ultrastructural and molecular phylogenetic studies. *Parasitol Res.* 2015; 114: 759-61



## **Глава 7**

---

# **Микотоксикология**

## **Chapter 7**

---

# **Mycotoxins and fungal poisoning**

## ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОХРАТОКСИНА А В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЗЕРНА КУКУРУЗЫ

*Изосимова И.В., Аксенов И.В.  
НИИ питания, Москва*

Микотоксин охратоксин А (ОТА), широко распространенный в мире природный загрязнитель продовольственного зерна, а также кофе- и какао-бобов, винограда и специй, обладает установленным нефротоксическим и канцерогенным действием. Согласно техническому регламенту Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011) допустимый уровень ОТА в продовольственном зерне (пшеницы, ячменя, ржи, овса, риса) и продуктов из него не должен превышать 0,0050 мг/кг. Наряду с этим, загрязнение ОТА пищевых продуктов с другой зерновой основой (кукуруза, гречиха и др.), за исключением детского питания, не учитывается действующими гигиеническими нормативами.

**Цель работы** – изучение контаминации ОТА кукурузных хлопьев – распространенного компонента завтраков и перекусов. В работе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (МУК 4.1.2204-07) было изучено содержание ОТА в 10 образцах кукурузных хлопьев (9 – отечественного и 1 – импортного производства), приобретенных в торговой сети Москвы. ОТА был выявлен в 8 из 9 проб отечественного производства в количестве от 0,0010 до 0,0014 мг/кг (медиана 0,0012 мг/кг) и в образце зарубежного производства – 0,0012 мг/кг.

**Вывод.** Данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований контаминации ОТА зерна кукурузы и пищевых продуктов на его основе в целях установления в них уровней допустимого содержания ОТА.

## ГИСТОСТРУКТУРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ Т-2-АФЛАТОКСИКОЗЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АДСОРБЕНТА

*Мишина Н.Н., Губеева Е.Г., Валиев А.Р., Семенов Э.И.*

*Федеральный центр токсикологической, радиационной  
и биологической безопасности, Казань*

Проблема получения биологически полноценной и безвредной животноводческой продукции, в том числе и в экологически загрязненных регионах остается пока нерешенной, как в научно – теоретическом, так и в практическом плане. Значительная часть кормов содержит микотоксины, тяжелые металлы и поллютанты. Это приводит к скрытым формам интоксикации поголовья, снижению сохранности, неэффективному использованию кормов, снижению потребительских свойств продукции животноводства и птицеводства [1].

Экономически выгодным и эффективным способом решением данной проблемы является применение энтеросорбентов, таких как пектины, всевозможные глины, алюмосиликаты, уголь, отруби, лигнин. Последний полимер приковывает к себе все больше внимания исследователей из-за своего сетчатого иррегулярного строения. Основные структурные единицы скелета которого – фенолпропиловые фрагменты – соединены между собой эфирными, алкилалкильными и арилалкильными связями. Его получают при гидролизе целлюлозы в качестве побочного продукта с последующим облагораживанием, нейтрализацией и промывкой. Полимер содержит большое количество свободных гидроксильных и метоксильных функциональных групп как в алифатических, так и в ароматических частях (их количество определяется технологией обработки, очистки, сырьевым источником), способных связывать как полярные так и неполярные вещества [2].

В ранее проведенных нами исследованиях, из группы лигнинсодержащих сорбентов был отобран энтеросорбент «Л-3», который показал в опытах *in vitro* наибольшую сорбционную емкость по отношению к Т-2 токсину – 79,5% и к афлатоксину В1 – 81,7% [3]. Для подтверждения положительных результатов *in vitro* провели опыт *in vivo*.

**Материалы и методы.** В ходе 30-дневного эксперимента были сформированы 4 группы животных, разделенных по принципу аналогов, по 18 крыс в каждой группе. Первая группа животных

служила биологическим контролем и в течение всего периода опыта получала «чистый» автоклавированный комбикорм, крысам 2 группы задавали «токсичный корм», контаминированный Т-2 токсином (в дозе 0,3 мг/кг корма) и афлатоксином В1 (в дозе 0,3 мг/кг корма); третья группа получала «токсичный корм» и энтеросорбент «Л-3» в количестве 0,5% от рациона; четвертая группа получала «токсичный корм» и энтеросорбент «Л-3» в количестве 1% от рациона.

Для экспериментальных исследований использовали кристаллические Т-2 токсин и афлатоксин В1 не отличающиеся от существующих стандартов, и ранее синтезированные в лаборатории микотоксинов ФГБУ ФЦТРБ-ВНИВИ. В качестве продуцентов использовали грибы *Fusarium sporotrichioides* штамм 2м-15, предоставленный проф. А.Н. Котиком, и *Aspergillus flavus* из коллекции ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань).

Материал для патологоанатомических исследований фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. После обезвоживания, уплотнения взятого материала и приготовления блоков делали гистологические срезы толщиной 8 мкм. Окрашенные гематоксилин-эозином гистологические препараты изучали в светооптическом микроскопе (OLIMPUS CX31), оценивая изменения структуры органов и тканей, а также параметры морфометрии, накладывая окуляр-насадку (МОВ-1-15х) и окуляр сетку. При вскрытии белых крыс провели исследование относительной массы внутренних органов (масса органа, г /100 г массы тела).

**Результаты исследования.** Зная, что афлатоксин В1 и Т-2 токсин обладают сильным взаимодополняющим действием на живую массу, относительную массу органов и титры антител у цыплят-бройлеров [6] интерес представляют результаты диагностического взвешивания внутренних органов белых крыс. В группе крыс, получавших токсичный корм к 30 сут эксперимента наблюдали достоверное увеличение относительной массы сердца, печени, почек на 27 ( $p < 0,05$ ), 12 ( $p < 0,05$ ), 46,3% ( $p < 0,01$ ) соответственно, и снижение относительной массы селезенки на 57% ( $p < 0,01$ ). Труфанов О.В. [4] считал, что механизмом, лежащим в основе этого явления, была компенсаторная гипертрофия, т.е. компенсация недостаточной функциональной активности этих органов происходит за счет увеличения их массы. В профилактируемых группах колебания относительной массы органов относительно данных контрольной группы были менее значительными и недостоверными.

При гистологическом исследовании у животных, получавших сочетано Т-2 и афлатоксин В1 в течение 30 сут наблюдались вы-

раженные изменения во внутренних органах. В почках на фоне паретического венозного полнокровия имели место периваскулярные кровоизлияния (рис. 2).

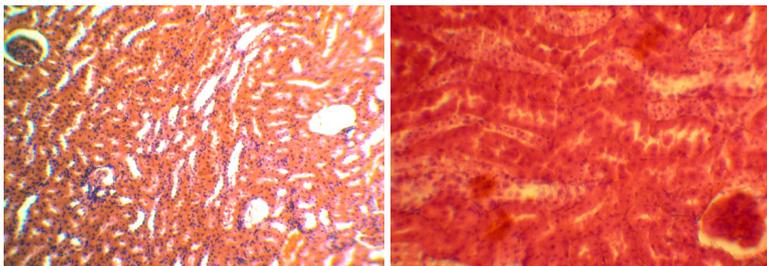


Рис. 1. Почка белой крысы из группы биологического контроля. Без видимых изменений. Окраска гематоксилин-эозином, x100

Рис. 2. Периваскулярные кровоизлияния на фоне паретического венозного полнокровия в почках крыс, получавших сочетано Т-2 и афлатоксин В1 в течение 30 сут. Окраска гематоксилин-эозином, x100.

В семенниках определялись признаки нарушения сперматогенеза, сперматогенный эпителий был дистрофически изменен, плотность сперматогенного эпителия уменьшена, наблюдалась частичная его десквамация, в просвете канальцев содержались редкие спермии и детрит.

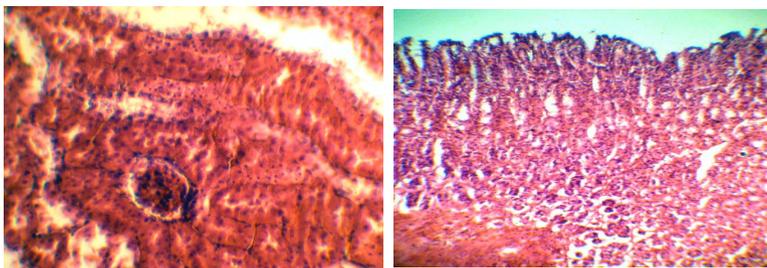


Рис. 3. Периваскулярные кровоизлияния в почках крыс, получавших Т-2 и афлатоксин В1 и энтеросорбент «Л-3» 0,5% от рациона в течение 30 сут. Окраска гематоксилин-эозином, x100.

Рис. 4. Кишечник белой крысы из группы биологического контроля. Без видимых изменений. Окраска гематоксилин-эозином, x100

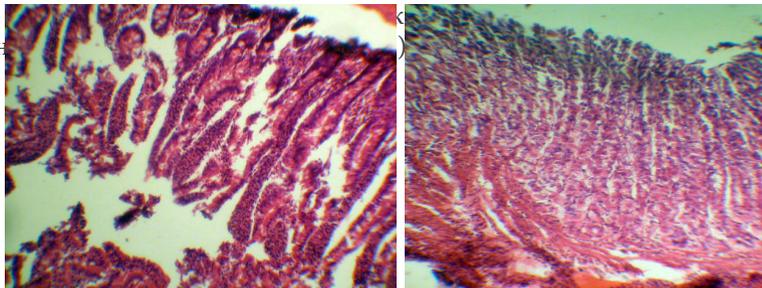


Рис.5. Дистрофия секреторных клеток и десквамация ворсин кишечника крыс, получавших сочетано Т-2 и афлатоксин В1 в течение 30 сут. Окраска гематоксилин-эозином,  $\times 100$

Рис. 6. Атрофия секреторных клеток кишечника крыс, получавших сочетано Т-2 и афлатоксин В1 и энтеросорбент «Л-3» в количестве 0,5% от рациона в течение 30 сут. Окраска гематоксилин-эозином,  $\times 100$

Введение в рацион энтеросорбента «Л-3» способствовало улучшению гистоструктурных показателей внутренних органов. Так, у крыс получавших с рационом Т-2 токсин и афлатоксин В1 сочетано в дозах 0,3 мг/кг корма и энтеросорбент «Л-3» в количестве 0,5% от рациона также имели место периваскулярные кровоизлияния в почках (рис. 2), в кишечнике имелись признаки гиперсекреции эпителия кишечника (рис. 6), гистроструктура остальных органов соответствовала норме.

**Вывод.** Установлено, что при сочетанном хроническом Т-2 и афлатоксикозе введение в рацион белых крыс энтеросорбента «Л-3» улучшает гистоструктурные показатели органов и тканей, что открывает перспективу для дальнейших исследований с целью получения экологически безопасной продукции.

### Список литературы

1. Иванов А.В., Тремасов М.Я. и др. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). М.: Колос, 2008: 177 с.
2. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф. Пищевые волокна – новый раздел химии и технологии пищи. *Вопр. пит.* 1998; 3: 36-8.
3. Мишина Н.Н. Изучение влияния энтеросорбентов на основе лигнина при смешанном Т-2 и афлатоксикозе. *Мат. н.-практ. конф. мол. ученых и спец. «Достижения молодых ученых в производстве»*, 25–26 июня 2008. Казань, 2008: 70-2.

4. Труфанов, О.В. Экспериментальный НТ-2 токсикоз цыплят. Совр. микол. в России. 2008; 2: 361.
5. Girish CK, Devegowda G. Efficacy of modified glucomannan (Mycosorb) and clay (HSCAS) to alleviate the individual and combined toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broilers. In: Proc. XXII World Poultry Congress, Istanbul, Turkey. 2004: 591.
6. Huff WE. Toxic synergism between aflatoxin and T-2 toxin in broiler. Poultry Sci. 1988; 67: 1418-23.
7. Raju MV. Esterified glucomannan in broiler chickens diets contaminated with aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin: evaluation of its binding ability (in vitro) and efficacy as immunomodulatory. Asian-Aust. J Anim Sci. 2002; 15(7): 1051-6

## СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ Т-2 ТОКСИНА, ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА И ЗЕАРАЛЕНОНА

Семёнов Э.И.

*Федеральный центр токсикологической, радиационной  
и биологической безопасности, Казань*

Корма растительного происхождения, контаминированные плесневыми грибами, представляют реальную опасность не только для здоровья сельскохозяйственных животных, но и для здоровья человека. При контаминации кормов существует возможность накопления микотоксинов, вторичных метаболитов плесневых грибов, кроме того, угнетается полезная микрофлора самих растений. При потреблении таких кормов и продуктов питания у животных и человека возникают отравления – микотоксикозы [1-5].

Растительные субстраты, обсемененные токсигенными грибами, не могут быть использованы в корм без соответствующей санитарной обработки, так как большие дозы микотоксинов у животных вызывают ярко выраженные признаки отравления, приводят часто к гибели. Микотоксины даже в малых дозах вызывают снижение продуктивности, прироста массы тела, ослабления резистентности организма, при этом создаются благоприятные условия для возникновения многих инфекционных болезней.

Расширение масштабов экспорта и импорта зерна между странами, наблюдаемое изменение климата в мире приводит к повышению возможности одновременной контаминации корма различными микотоксинами [6-8]. Причем концентрация каждого токсина в отдельности может быть ниже установленной ПДК, что затрудняет постановку диагноза, повышает тяжесть заболевания и обуславливает высокий экономический ущерб. Возможные варианты комбинаций микотоксинов многочисленны и их воздействие на организм бывает непредсказуемым.

**Цель работы** – изучение сочетанного воздействия фузариотоксинов: Т-2 токсин, дезоксиниваленол и зеараленон.

**Материалы и методы.** Экспериментальные исследования проведены в лаборатории микотоксинов в специализированном виварном комплексе ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань).

Эксперимент был проведен на поросятах-отъёмышках. Опытные и контрольные группы животных формировали по принципу аналогов, в каждой группе было по 10 особей, одного возраста, массы

тела, пола, продуктивности, различия в группе между животными были в пределах статистической достоверности. Перед постановкой опытов животные выдерживались на 2-х недельном предварительном карантине, кормление проводили согласно принятым нормам, в течение всего опыта животные находились в одинаковых условиях содержания.

Для экспериментов использовали полученные в лаборатории микотоксинов чистые кристаллические микотоксины: дезоксиниваленон, Т-2 токсин и зеараленон как одни из широко распространённых и опасных микотоксинов. В качестве продуцентов микотоксинов были грибы-суперпродуценты микотоксинов рода *Fusarium* из коллекции штаммов ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

Опыт проведен на 20 поросятах-отъёмышках (самки), животных разделили на 2 группы, длительность эксперимента – 30 суток. Животным первой группы задавали корм, искусственно контаминированный микотоксинами дезоксиниваленон 1000 мкг/кг корма, зеараленон 50 мкг/кг корма и Т-2 токсин 50 мкг/кг корма. Дозировки микотоксинов взяты нами как 0,5 ПДК, 1,4 ПДК и 0,5 ПДК соответственно. Животные второй группы, служили биологическим контролем и получали в течение всего периода опыта «чистый» комбикорм, не содержащий микотоксинов

**Результаты.** Проведено исследование гематологических параметров поросят на фоне хронического поступления одновременно нескольких микотоксинов и на фоне применения инактиватора микотоксинов ESCENT DRY.

В опытных группах у животных наблюдали колебание показателей лейкоцитов. Так, к 10 сут. эксперимента относительно показателей группы биологического контроля в первой группе животных, получавших с кормом микотоксины, отмечали значительное увеличение общего количества лейкоцитов на 48,5%, увеличение лимфоцитов на 36,5%, к концу эксперимента лимфоциты в первой группе уменьшились на 17,77%.

В 1-й группе животных, отмечали значительное увеличение моноцитов и гранулоцитов соответственно на 69,2 и 102,3%, к концу эксперимента моноцитов и гранулоцитов их было больше на 43,5 и 112%. Динамика изучаемых показателей свидетельствует, что в первой группе животных значительное увеличение лейкоцитов на 10 и 20 сут опыта было связано с несколькими факторами: воздействие микотоксинов (в начале интоксикации закономерно увеличение форменных элементов), признаки диареи животных (фактор суще-

ния крови) и инфекционная нагрузка, которую мы подтвердили в течение опыта. Увеличение количества гранулоцитов мы связываем с аллергизирующим действием микотоксинов и реакцию организма на бактериальное токсин тоже.

В опытных группах у животных наблюдали колебание количества эритроцитов. Однако оно было менее значительным, чем изменения количества лейкоцитов. Следует отметить наиболее значимые изменения: в первой группе содержание эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов было закономерно ниже, чем в группе биологического контроля, на 41,5, 22,5 и 76% соответственно. Таким образом, данные свидетельствуют о негативном воздействии микотоксинов на гематологические показатели животных.

Наблюдали незначительное колебание содержания общего белка. Более выраженное уменьшение было в первой группе на 20 сутки и 30 сутки на 8,21 и 13,1% соответственно. Аналогичная закономерность отмечалась и в концентрации глюкозы – более выраженное уменьшение было в первой группе на 20 сутки и 30 сутки на 40,5 и 56,8% соответственно. Содержание билирубина значительно возрастало в первой группе – на 408%, что свидетельствует о токсической нагрузке на печень.

Следует отметить значительные колебания в сторону увеличения активности АЛТ к 10 и 20 сут на 39,4 и 76% относительно биологического контроля и к 30 суткам на 41%, но учитывая снижение коэффициента Ритиса до 0,95 при коэффициенте 1,31 в контроле, это свидетельствует о нарушениях происходящих в печени животных первой группы. Во всех группах наблюдали увеличение содержания малонового диальдегида, в группе токсического контроля увеличение было более выражено.

Так, к 10 сут эксперимента относительно показателей группы биологического контроля в первой группе животных, получавших с кормом микотоксины, отмечали увеличение МДА на 59,89%, к 20 сут увеличение в первой группе составило 118,5%, к концу эксперимента увеличение МДА составило в первой группе на 67,43%.

Животные в группе, получающей токсичный корм, содержащий микотоксины, потребление корма было ниже, чем в других группах, через 6–8 сут наблюдался частичный отказ от корма, который длился 3–4 сут, в последующем животные вновь потребляли корм, но в меньших количествах и поросята были значительно менее активны по сравнению с другими группами. Это мы связываем наличием дезоксиниваленола в рационе животных. Это особенно проявилось во второй половине опыта – животные были вялыми, собирались

в кучу, поджимали живот, наблюдалось расстройство желудочно-кишечного тракта, у отдельных самок наблюдали незначительные кровотечения из половых органов, опухание вульвы, к 26 сут опыта признаки опухания вульвы были у 5 животных из 8, у 1 особи произошло выпадение влагалища, что свидетельствует о проявлении клинических признаках микотоксикоза (зеараленотоксикоза), которое было более выражено, несмотря на низкую концентрацию данного токсина, это мы связываем с длительным поступлением зеараленона вместе с другими микотоксинами, малый возраст животных и ослаблением животных в результате перенесенной инфекционной болезни.

У поросят в группе токсического контроля к 21–23 сут ухудшилось самочувствие, наблюдалось повышение температуры, 2 поросёнка умерло. При исследовании пат материала были выявлены патогенные микроорганизмы – возбудители инфекционных заболеваний: *Clostridium* и *Escherichia*.

При гистологическом исследовании было выявлено, что поедание корма, зараженного микотоксинами, приводит к патологическим изменениям в ряде органов и половых железах. В печени развивалась белковая дистрофия с очаговыми некрозами, достигающими 1/3 клеток дольки. В печени также проявлялась реакция Купферовских клеток, которые несколько увеличивались, деформировались, расширялось пространство под Купферовской клеткой (пространство Диссе). При этом выраженной реакции микрофагальных клеток не наблюдалось.

В почках развивалась белковая дистрофия, сопровождающаяся десквамацией эпителиальных клеток в просветы канальцев, скоплениями белковых масс в просветах канальцев. Наблюдались очаговые некрозы эпителия канальцев. Отмечено, что капилляры клубочков при этом несколько утолщались, становились отечными.

В легких очаговый серозный отёк межальвеолярных перегородок. В селезенке происходило обеднение белой пульпы. В стенке 12-перстной кишки наблюдалось усиление полиморфноклеточной инфильтрации с выходом многочисленных лимфоцитов из лимфатических фолликул кишки, появлялись очаговые некрозы слизистой.

В стенке желудка определялась инфильтрация лимфоидными клетками, очаговые некрозы слизистой. В сердце имелись небольшие участки межзубчатого серозного отёка со слабо выраженной полиморфноклеточной реакцией, включающей лимфоциты, гистиоциты и макрофагоподобные клетки. В яичниках были обнаружены

фолликулы с неравномерным окрашиванием структуры в различные оттенки синего цвета, до интенсивного базофильного, имелись скопления гомогенных эозинофильных масс, при этом строение на этих участках не определялось, т.е. обнаруживались колликвационные некрозы единичных фолликул яичника.

**Выводы.** Сочетанное воздействие фузариотоксинов Т-2, ДОН и зеараленона на организм поросят в дозах ниже или близких к предельно-допустимым в течение 30 сут оказывает выраженное, достоверное негативное воздействие на гематологические, биохимические, иммунологические и продуктивные показатели поросят, гистоструктуру органов и тканей, способствует возникновению инфекционных заболеваний. Полученные результаты следует учитывать для более адекватной оценки безопасности кормов в свиноводстве, что позволит предотвращать возможные риски и более обоснованно применять средства профилактики.

### Список литературы

1. Иванов А.В., Тремасов М.Я. и др. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). М.: Колос, 2008: 177 с.
2. Boutrif E. Mycotoxin prevention and control: FAO programmes. Rev med vet. (Fr). 1998; 6: 681-94.
3. Buening GM. The effect of T-2 toxin on the immune bovine system: Cellular factors. Vet Immunol Immunopathol. 1982; 3: 411-17.
4. Fink-Gremmels J. Микотоксины в грубых и сочных кормах. Микотоксины и микотоксикозы. М.: Печатный город, 2006: 157-79.
5. Jouany JP. Микотоксикозы жвачных. Микотоксины и микотоксикозы. М.: Печатный город, 2006: 231 с.
6. Niyo KA. Effects of T-2 mycotoxin ingestion on phagocytosis of *Aspergillus fumigatus* conidia by rabbit alveolar macrophages and on hematologic, serum biochemical, and pathologic changes in rabbits. Am J Veter Res. 1988; 49(10): 1766-73.
7. Patey AL. Fate of Fusarium in cereals during food processing and methods for their detoxification. Fusarium: Mycotoxins, Taxon and Pathogenicity: Semin, Warsaw. 1987: 339-420.
8. Trevor KS. Современные подходы к микотоксикозам. Микотоксины и микотоксикозы. М.: Печатный город, 2006: 213.

## ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ Т-2 ТОКСИКОЗЕ И ПРИМЕНЕНИИ ПОЛИСАХАРИДНОГО АДсорбЕНТА

Семенов Э.И., Дорожкин В.И., Тремасов М.Я., Канарский А.В.

*Федеральный центр токсикологической, радиационной  
и биологической безопасности, Казань  
ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, Москва  
Казанский государственный технологический университет*

**Введение.** Микотоксины относятся к одной из доминирующих в последние годы групп биогенных ядов, загрязняющих как корма, так и продукты питания [4]. При потреблении таких кормов и продуктов питания у животных и человека возникают отравления – микотоксикозы. Одним из механизмов негативного влияния микотоксинов на организм человека и животных является усиление перекисного окисления липидов [2] (ПОЛ).

ПОЛ – нормальный метаболический процесс во всех органах и тканях, который играет важную роль в физиолого-биохимическом гомеостазе нормальной клетки, но также выступает как универсальное неспецифическое звено механизма развития различных патологических состояний организма [3].

Известно неспецифическое антиоксидантное действие отдельных энтеросорбентов, благодаря их свойству связывать и выводить из организма токсические продукты свободно-радикального окисления липидов. Поэтому было интересно провести исследование влияния полисахаридного адсорбента, разработанного в ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» совместно с КГТУ (г. Казань), на процессы ПОЛ при патологическом состоянии организма в модельном опыте на лабораторных животных

**Цель работы** – изучить в лабораторных условиях влияние полисахаридного адсорбента на процессы перекисного окисления липидов при Т-2 токсикозе животных.

**Материалы и методы.** Опыты проводились на белых крысах. Перед постановкой опытов животные выдерживались на 2-х недельном карантине, кормление проводили согласно принятым в зоотехнии нормам. Опытные и контрольные группы животных формировали по принципу аналогов. В течение всего опыта животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Для экспериментальных исследований использовали Т-2 токсин как один из широко распространённых и наиболее опасных ми-

котоксинов. Кристаллический Т-2 токсин получен в лаборатории микотоксинов ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», в качестве продуцента Т-2 токсина использовали грибок *Fusarium sporotrichioides* штамм 2М15, представленный д.б.н. А.Н.Котиком. В качестве профилактического средства применялся полисахаридный адсорбент, разработанный в ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» совместно с КГТУ (г. Казань), в качестве препарата сравнения – коммерческий адсорбент дрожжевого происхождения. Опыт проведен на 40 самцах нелинейных белых крыс, животных разделили на 4 группы, длительность эксперимента – 10 сут.

Первая группа (биологический контроль), в течение всего периода опыта получала «чистый» комбикорм, не содержащий микотоксин. Вторая группа – животным задавали «токсичный» корм, контаминированный микотоксином Т-2 (1,0 мг/кг корма). 3-я группа – животные получали «токсичный рацион» и дрожжевой энтеросорбент в количестве 5 г/кг корма. Животные 4-й группы получали «токсичный рацион» и полисахаридный растительный энтеросорбент в количестве 5 г/кг корма.

В ходе экспериментов изучалось клиническое состояние животных, потребление корма и воды, изменение массы тела, регистрировали выживаемость. После проведения необходимых процедур, определяемых целью и задачами эксперимента, путём декапитации брали кровь для исследований. О степени интенсивности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению вторичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [1].

Результаты исследования. Провели изучение процессов перекисного окисления липидов при введении микотоксинов на фоне применения сорбентов т.к усиление перекисного окисления липидов – один из основных механизмов патогенного воздействия микотоксинов. Было зарегистрировано закономерное увеличение содержания малонового диальдегида (МДА) в крови крыс.

Регистрировали закономерное увеличение содержания МДА в крови крыс. Так, во 2-й группе на 30 сут увеличение содержания МДА составило 23,8% ( $p < 0,05$ ). В 3-й группе на 13,8% ( $p < 0,05$ ). В 4-й группе на 5,0%. Это свидетельствует о более выраженном неспецифическом антиоксидантном действии адсорбента.

**Заключение.** В результате проведённых исследований установлено, что применение полисахаридного адсорбента при микотоксикозах животных с выраженной активацией свободно-радикального окисления липидов оказывало защитное действие, что выражалось в меньшем накоплении в организме малонового диальдегида.

Полисахаридный адсорбент, более активно связывал перекисные продукты метаболизма, чем дрожжевой адсорбент. Вероятно, это связано с особенностью структуры испытуемого адсорбента и неспецифическому связыванию широкого ряда различных соединений, в том числе микотоксинов – активаторов ПОЛ и продуктов перекисного окисления.

### **Список литературы**

1. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов. Лабораторное дело. 1985; 1: 60-1.
2. Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Чулков А.К. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). – М.: Колос, 2008: 140 с.
3. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М.: Колос, 2004: 520 с.
4. Фетисов Л.Н., Солдатенко Н.А., Русанов В.А. Микотоксины в кормах – одна из проблем современного животноводства в южном федеральном округе. Усп. мед. микол. 2006; 7: 125-7

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФУМОНИЗИНОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

Шанин И.А.<sup>1</sup>, Возняк М.В.<sup>2</sup>, Возняк В.М.<sup>2</sup>, Еремин С.А.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>ООО «Тест-Пушино», Московская область, г. Пушино

<sup>3</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

Разработана методика иммуноферментного анализа (ИФА) для определения фумонизинов. Фумонизины оказывают нейротоксический, нефротоксический и канцерогенный эффект. В России, согласно нормативным требованиям (СанПиН 2.3.2.1078-01 и ЕврАЗЭС), введена предельно допустимая концентрация на сумму фумонизинов В1 и В2 на уровне 200 нг/г для кукурузной муки. В настоящее время для определения микотоксинов в основном используются хроматографические методы с различными детекторами. В последнее время для определения микотоксинов (в том числе фумонизинов) стали использовать импортные наборы для ИФА. ИФА характеризуется высокой производительностью, простой пробоподготовкой и относительной дешевизной.

Получены иммунореагенты и разработана методика прямого ИФА для определения суммы фумонизинов В1 и В2. Для оптимизации методики использовали моноклональные антитела, полученные в ООО «Тест-Пушино». Конъюгат фумонизина В1 с овалбумином синтезировали с помощью глутарового альдегида и использовали для сорбции на стенках лунок полистиролового планшета. Разработанная методика гетерогенного твердофазного ИФА характеризовалась диапазоном определяемых концентраций от 1 до 20 нг/мл в модельной системе и пределом обнаружения 0,5 нг/мл фумонизинов В1 и В2. Определение 40 образцов в двух повторах на одном планшете проводилось в течение 2 ч. Такие аналитические характеристики позволяют проводить определение фумонизинов в образцах, проводя простую пробоподготовку экстракцией и разведением.

*Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (соглашение № 14.607.21.0015 от 05.06.2014).*

## ЗАМАСКИРОВАННЫЕ МИКОТОКСИНЫ

Соколова Г.Д.

ВНИИ фитопатологии, Большие Вяземы, Московской обл.

Наиболее распространенным микотоксином, обнаруживаемым в зерне злаковых культур, является представитель трихотеценов типа В – 4-дезоксиниваленол (ДОН), продуцируемый *Fusarium graminearum* и *F. culmorum*.

Колонизация патогеном сопровождается индуцированием защитных реакций растения, направленных на то, чтобы воспрепятствовать чужеродному вторжению и обезвредить метаболиты патогена. Одним из наиболее общих механизмов детоксикации ксенобиотиков, в том числе микотоксинов, в растении является их гликозилирование, катализируемое гликозилтрансферазами. Показано, что ДОН в растениях может частично превращаться в ДОН-3-β-D-гликопиранозид (D3G). По сравнению с ДОН, это вещество менее активно в качестве ингибитора белкового синтеза по оценке *in vitro*, более водорастворимо и доступнее для мембранных транспортных систем. Благодаря новым свойствам оно выводится из цитозоля и депонируется в вакуолях или в клеточных стенках растения. При использовании таких растений в качестве продуктов питания или кормов для животных накапливаемые в растении метаболиты могут выступать в качестве нежелательных контаминантов, наряду с исходным веществом. Стандартные методы определения нормируемых в зерне микотоксинов, обычно, не рассчитаны на выявление трансформированных форм, и их содержание остается неучтенным. Поэтому модифицированные растением метаболиты микотоксинов, получили название замаскированных (masked) микотоксинов [1, 2].

Биохимическая судьба D3G в пищеварительном тракте человека и животных пока недостаточно изучена. Berthiller с соавт. (2011) сообщали, что D3G довольно устойчив в кислых условиях *in vitro* и, вероятно, не гидролизуетсся с образованием ДОН в желудке млекопитающих. Однако D3G может разлагаться кишечной микрофлорой. Так, некоторые виды молочнокислых бактерий, таких, как *Enterococcus durans*, *E. mundtii* или *Lactobacillus plantarum*, выделенные из пищеварительного тракта животных, высвобождали ДОН из его гликозида. Предварительные опыты на крысах показали, что большая часть попавшего с пищей D3G распадалась в желудочно-кишечном тракте с образованием ДОН и выводилась из организма.

Исследования по изучению токсикологических характеристик этого метаболита, а также по определению его содержания и частоты встречаемости в продуктах питания и кормах продолжают.

Для выявления и количественного определения D3G или получения дифференцированных данных о свободных и модифицированных микотоксинах могут использоваться традиционные хроматографические методы [1], в том числе высокоэффективная жидкостная хроматография, а также хромато-масс-спектрометрия. При разработке методик необходимо учитывать физико-химические свойства метаболитов, чтобы не допускать их потерь в процессе выделения и предварительной очистки образцов. Немаловажным обстоятельством является и появление коммерчески доступных эталонных образцов D3G. Усовершенствованные методики определения свободных и замаскированных микотоксинов в зерне и зернопродуктах позволяют накапливать информацию, необходимую для оценки потенциальных рисков для здоровья человека и животных.

В последние годы показано, что концентрация D3G положительно коррелирует с содержанием ДОН. Соотношения D3G к свободному ДОН по некоторым оценкам варьировали между 20 и 70 % в зависимости от вида и генотипа зерновых культур, страны и года уборки урожая. Кроме пшеницы и кукурузы D3G также обнаружен в овсе и ячмене. При этом отмечалось, что при использовании ячменя, содержащего ДОН, в пивоварении, в процессе соложения, когда при прорастании зерна активировались ферменты деградации полисахаридов, количество D3G увеличивалось, попадая в пиво и в твердые отходы, используемые в качестве добавок в кормопроизводстве. Появились данные об обнаружении олигогликозидов ДОН в солоде и пиве, как о новых замаскированных микотоксинах.

Внимание к D3G возросло в связи с необходимостью создания сортов пшеницы, устойчивых к фузариозу колоса. ДОН является одним из факторов вирулентности, способствующих распространению патогена внутри колоса пшеницы. Селекционеры рассматривают способность сортов пшеницы детоксицировать ДОН как один из важных компонентов общей устойчивости пшеницы к ДОН-продуцирующим видам *Fusarium*. В поисках молекулярно-генетических механизмов детоксикации ДОН Lemmens с соавторами (3) нашли локус на хромосоме 3В, определяющий способность сортов пшеницы конвертировать ДОН в D3G и показали, что он связан с одним из главных локусов количественных признаков (QTL) устойчивости к фузариозу колоса, обозначаемым как Fhb1. Этот QTL был обнаружен в китайской линии яровой пшеницы Sumai-3

(*Triticum aestivum*), которая считается одной из самых устойчивых к фузариозу колоса и обладает свойством быстро конвертировать ДОН в D3G [4]. При этом суммарное содержание D3G + ДОН в зерне остается достаточно низким. Sumai-3 является наиболее часто используемой линией в селекционных программах во всем мире как источник устойчивости к поражению фузариозом колоса.

Кроме того, идентифицировано несколько генов, кодирующих ДОН-специфичную UDP-глюкозилтрансферазу, катализирующую конъюгацию ДОН с глюкозой. Так, Poppenberger с соавторами (2003) идентифицировали ген DOGT1 в *Arabidopsis thaliana*. Повышенная экспрессия гена в *Arabidopsis* приводила к увеличению устойчивости проростков этого растения к фитотоксическому действию ДОН. Schweiger с соавт. (2010) выделили ген HvUGT13248 из ячменя. Культура дрожжей, экспрессирующая этот ген, конвертировала ДОН в D3G. Подобные работы открывают перспективу создания трансгенных растений, обогащенных эффективными генами, кодирующими трихотецен-3-О-глюкозилтрансферазы. Побочным эффектом такой стратегии повышения устойчивости растений к фузариозу может стать накопление замаскированного микотоксина D3G. Поэтому при оценке устойчивости сортов к фузариозу и накоплению ДОН необходимо анализировать и возможное содержание D3G.

Растительный метаболит D3G является наиболее распространенным из замаскированных микотоксинов. Сведений о гликозидах других трихотеценовых микотоксинов меньше. Так, опубликованы данные о гликозидах ниваленола и фузаренона-Х, а также о гликозидах Т-2 токсина и НТ-2 токсина. Использование высокочувствительного оборудования, объединяющего жидкостную хроматографию с масс-спектрометрией высокого разрешения позволило идентифицировать ранее неизвестные метаболиты, основываясь на характере фрагментации и точном определении масс характеристичных ионов. Nakagawa et al. [5] обнаружили в некоторых зернопродуктах неосоланиол-гликозид и диацетоуксисцирпенол-гликозид.

Что касается фузариотоксинов из других химических групп, то имеются сведения о гликозидах зеараленона [1], а среди микотоксинов, продуцируемых другими видами грибов, опубликованы данные о гликозидах охратоксина А и деструксинов [1].

Образование гликозидов – не единственный механизм обезвреживания чужеродных веществ в растениях. Не менее важным способом дезактивации является конъюгация с глутатионом. Реакция катализируется глутатион-S-трансферазами, но в случае

с ДОН, как было показано в опытах *in vitro*, образование конъюгатов может происходить и без участия ферментов. В отличие от гликозидов реакции конъюгации с глутатионом необратимы. Деградация конъюгатов возможна, но продукты будут отличаться от исходного вещества. Пока не известно, какая часть ДОН связывается с глутатионом в растениях. Gardiner с соав. (2010), проведя транскриптомный анализ обработанных ДОН колосков ячменя, выявили повышенную экспрессию не только генов, кодирующих UDP-гликозилтрансферазы, в том числе катализирующих превращение ДОН в D3G, но и генов, кодирующих глутатион-S-трансферазы, а также генов, кодирующих ABC транспортеры, необходимые для переноса глутатионовых конъюгатов из цитозоля в места депонирования. Кроме того, в ответ на введение ДОН усиливалась экспрессия генов цистеинсинтазы, вовлеченной в биосинтез глутатиона. Все это дает основание предполагать, что дезактивация ДОН путем конъюгации с глутатионом в ячмене вполне вероятна, и что этот механизм может реализоваться параллельно с гликозилированием.

Таким образом, анализ литературы показывает, что при оценке содержания микотоксинов в образцах, особенно в случаях, когда их концентрация приближается к предельно допустимым, необходимо оценивать и возможное содержание так называемых замаскированных, т. е. модифицированных (конъюгированных, трансформированных) растением микотоксинов.

### Список литературы

1. Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C et al. Masked mycotoxins: A review. *Mol Nutr Food Res*. 2013; 57: 165–86.
2. Rychlik M, Humpf H-U, Marko D et al. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. *Mycotoxin Res*. 2014; 30(4): 197–205.
3. Lemmens M, Scholtz U, Berthiller F et al. The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Mol. Plant Microbe Interact*. 2005; 18: 1318–24.
4. Cirlini M, Generotti S, Dall’Erta A et al. Durum wheat (*Triticum Durum* Desf.) lines show different abilities to form masked mycotoxins under greenhouse conditions. *Toxins* 2014; 6: 81–95.
5. Nakagawa H, Sakamoto S, Sago Y et al. Detection of masked mycotoxins derived from type A trichothecenes in corn by high-resolution LC-Orbitrap mass spectrometer. *Food Addit Contam. Pt A*. 2013; 30(8): 1407–14.

## ВОЗДЕЙСТВИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ПРОДУЦИРОВАНИЕ АФЛАТОКСИНА В1

*Танасева С.А., Валиев А.Р., Степанов В.И., Иванов А.А.  
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань*

Обширную группу грибов представляют грибы рода *Aspergillus*, из них некоторые виды продуцируют опасные микотоксины – афлатоксины. Грибы – продуценты микотоксинов хорошо растут и вырабатывают токсины на различных субстратах, практически повсеместно и немаловажную роль при этом играют нарушение технологии возделывания полевых культур, хранения урожая и готовой продукции продуктов [1]. Однако сведения относительно их токсигенного потенциала весьма ограничены. Поэтому нами, в лабораторных условиях были проведен эксперимент по влиянию высокой температуры на грибы-продуценты афлатоксина В1, выделенные в средней полосе России.

*Материалы и методы.* Объектами исследования служили выделенные из токсичных кормов изоляты грибов, под рабочими шифрами *Aspergillus flavus* 25Р (выделен из сенажа кукурузного) и *Aspergillus flavus* СК (выделен из зерносмеси). Оценку токсинообразования грибов проводили по схеме, описанной в [2], с изменениями, учитывающими наш собственный опыт в подобных исследованиях.

Схема включала: приготовление инокулюма путём посева чистой культуры на скошенный агар Чапека, его инкубацию при температуре 26 °С в течение 10 сут, посев на стерильный зерновой субстрат с влажностью 35% (влажность повышали добавлением водопроводной воды). В качестве субстратов использовали ячмень, автоклавированный при 1 атм. в течение 40 мин. Для инокуляции использовали 10-суточные культуры отобранных грибов-продуцентов. Инокулюм представлял собой гомогенную взвесь клеток гриба в 0,01% водном растворе Твин-80 (около 20 тыс. диаспор/мл). Выращивание проводили по 2 режимам: I - 5 сут при температуре 26 °С, 10 сут при температуре 35 °С, затем в течение 12 ч при температуре 65 °С и 20 сут при температуре 20 °С; II – 30 сут при температуре 26 °С. По окончании культивирования, фунгальную массу высушивали и проводили определение афлатоксина В1. Идентификацию афлатоксина В1 в высушенной биомассе прово-

дили с помощью иммуноферментного анализа (коммерческие ИФА тест-системы производства Германия и Россия), подтверждение результатов проводили с помощью ВЭЖХ.

**Результаты исследования.** Проведённые исследования показали, что максимальное продуцирование афлатоксина В1 регистрировали у изолята выделенного из кукурузного сенажа *Aspergillus flavus* 25Р – 0,7 мг/кг сухой фунгальной биомассы после кратковременного высокотемпературного воздействия и значительно ниже при воздействии температурой 26 °С – 0,09 мг/кг сухой фунгальной биомассы. Что закономерно согласуется с данными авторов [3], которые регистрировали загрязнение афлатоксинами зерна различных культур при самосогревании.

Напротив, для изолята выделенного из зерносмеси *Aspergillus flavus* СК кратковременное высокотемпературное воздействие не оказывало статистически достоверного влияния на токсинообразование, содержание афлатоксина В1 варьировало от 0,16 до 0,21 мг/кг сухой фунгальной биомассы.

Полученные данные подтверждают, что выделенные изоляты обладают довольно высоким токсигенным потенциалом и могли быть причиной возникновения микотоксикозов, а выявленный различный уровень токсинообразования в зависимости от температурного режима, могут объяснять случаи возникновения спонтанных микотоксикозов и свидетельствуют, что при оценке токсигенности штаммов *Aspergillus flavus* необходимо учитывать особенности токсигенеза выделенных изолятов. При изучении спонтанных микотоксикозов часто выявляются внезапность их появления и прекращения, выявление грибов-продуцентов и образование ими микотоксинов за короткий срок в различных регионах, климатических условиях и субстратах [4].

### Список литературы

1. Иванов А.В., Тремасов М.Я., Папуниди К.Х., Чулков А.К. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). – М.: Колос, 2008: 140 с.
2. Токарева С.В. Токсинообразование у популяций *Fusarium roae*, поражающих зерно хлебных злаков в Уральском и Западно-Сибирском. Сельскохоз. биол. 2009; 1: 89-92.
3. Мачихина Л. Повреждение зерна на поле и при хранении. Комбикорма. 2006; 3: 65.
4. Тремасов М.Я. Спонтанные смешанные микотоксикозы животных. Ветеринария. 1995; 3: 20-2.

## РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС МЕТОДА ИНДИКАЦИИ ЗЕАРАЛЕНОНА

Титова В.Ю., Матросова Л.Е., Семенов Э.И., Тремасов М.Я.

Федеральный центр токсикологической, радиационной  
и биологической безопасности, Казань

Одним из опасных микотоксинов является фузариотоксин – зеараленон, обладающий сильным эстрогенным, тератогенным действием, и представляющий серьезную проблему для животноводства, а его способность накапливаться в тканях сельскохозяйственных животных делает его потенциально опасным для здоровья человека. Основным продуцентом зеараленона является гриб *Fusarium graminearum* [1, 2]. В естественных условиях зеараленон является контаминантом зерновых культур (кукуруза, ячмень, овес, пшеница, сорго), но может встречаться и в других продуктах (грецкие орехи, пиво), он распространен во всем мире. Токсинообразование зеараленона происходит при температуре окружающей среды 8–10 °С и влажности 60 % [3].

Отравление животных зеараленоном сопровождается признаками, характерными для эстрогенного синдрома. У самок отмечается увеличение матки, молочных желез, атрофия яичников, выпадение влагалища, а также – аборт, мертворождения, вульвовагиниты, уретрит, выпадение прямой кишки, мумификация плода, бесплодие. У самцов токсикоз характеризуется признаками феминизации – увеличение молочных желез, атрофией тестикул [4, 5].

Индикация микотоксинов в кормах, в частности зеараленона, согласно нормативным документам (ГОСТ [6], МУ [7]) – процесс достаточно длительный и кропотливый, включающий многоэтапную и длительную процедуру экстракции и очистки экстракта, с использованием большого количества реактивов.

**Материал и методы.** Исследования проводили на пробе комбикорма, контаминированного естественным путем микотоксином зеараленоном. Индикацию микотоксина проводили двумя способами.

Первый способ заключался в использовании стандартной методики определения зеараленона, разработанной ФГБНУ «НИИ питания» (г. Москва), включающим экстракцию микотоксина водным раствором ацетонитрила, переэкстракцию бензолом, очистку гексаном, с последующим упариванием экстракта и определением хроматографическими методами (ТСХ и ВЭЖХ). Эта методика за-

рекомендовала себя надежной, чувствительной и наименее трудоемкой и, соответственно, экспрессной среди существующих методов.

Второй способ, предложенный нами, включал экстракцию зеараленона бензолом в течение 30 мин, очистку экстракта с помощью фильтра Владипор под вакуумом, с последующим упариванием экстракта и исследованием методами ТСХ и ВЭЖХ. Время анализа составляет максимум 2,5 ч.

**Результаты.** Модифицированная нами методика определения зеараленона при помощи использования мембранного фильтра «Владипор» показала хороший результат в плане экспрессности и чувствительности. Очистку экстракта проводили в колбе Бюнзена, с использованием воронки Зейтца и компрессора для создания вакуума.

Сравнительный анализ при использовании двух методов экстракции микотоксина зеараленона показал идентичные результаты, содержание микотоксина в пробе варьировало на уровне  $2,6 \pm 0,04$  мг/кг. При этом скорость определения вторым способом была намного выше, чем первым. Также был сделан смыв с фильтра бензолом и проанализирован на содержание микотоксина, что позволило заключить, что зеараленон свободно проходит через фильтр и не задерживается на нем, в то время как многие примеси, мешающие определению микотоксина остались на фильтре.

### Список литературы

1. Тутельян В.А. Микотоксикозы. М.: Медицина, 1985: 319 с.
2. Костин В.В. Зеараленонтоксикоз свиней и меры борьбы с ним.: Сб. науч. тр. Всерос. НИИ вет. сан. гиг. и экол. М. 1992; 91. (Ч. 2): 51-6.
3. Трemasов М.Я. Профилактика микотоксикозов в России. Ветеринария. 2002; 9: 3-8.
4. Иванов А.В. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). М.: «Колос», 2008: 140 с.
5. Санитарно-микологическая оценка кормов и улучшение их качества. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006: 32 с.
6. ГОСТ Р 51425-99 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения массовой доли зеараленона. М.: Госстандарт России, 1999: 5 с.
7. Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола (вомитоксина), ацетилдезоксиниваленола и зеараленона в зерне и зернопродуктах. М.: МЗ СССР, 1990: 15 с.

## **Глава 8**

---

# **Перспективные антимикотики и методы терапии микозов**

## **Chapter 8**

---

# **Future antifungals and novel therapeutic methods**

## ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ *MONARDA FISTULOSA* L. И *BISTORTA OFFICINALIS* DELABRE ОТНОСИТЕЛЬНО ВОЗБУДИТЕЛЯ КАНДИДОЗОВ *CANDIDA ALBICANS*

Андреева И.С.<sup>1</sup>, Высочина Г.И.<sup>2</sup>, Лобанова И.Е.<sup>2</sup>,  
Соловьянова Н.А.<sup>1</sup>, Воронкова М.С.<sup>2</sup>, Селиванова М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово,  
Новосибирская область;

<sup>2</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

Примерно 400 из них патогенны для человека, при этом список грибов, вызывающих микоаллергозы и микотоксикозы, поверхностные, подкожные, глубокие и системные микозы, госпитальные инфекции, с наиболее тяжелыми осложнениями у пораженных ВИЧ больных, непрерывно пополняется. В связи с этим необходимость расширения рынка антифунгальных препаратов представляется весьма актуальной задачей. Это в первую очередь относится к кандидозам – наиболее распространенной группе микозов, протекающих не только в виде поверхностных форм, но и поражающих внутренние органы и нервную систему [1, 2].

Многолетние травянистые растения рода *Monarda* L. (монарда) из семейства *Lamiaceae* (яснотковые), проявляющие антигельминтную, антибиотическую и иммуномоделирующую активность, обусловленную, в основном, содержанием эфирных масел (4,2 %), обладающие антисептическим и противовоспалительным действием благодаря наличию флавоноидов (3,2 %) [3], представляются перспективными для разработки антимикотических средств.

Своими целебными свойствами известен также змеевик лекарственный (*B. officinalis* Delabre) [4]. В подземных органах растения обнаружены катехины и фенолкарбоновые кислоты [5, 6], гидролизующие дубильные вещества (до 36,0 %), тритерпеноиды циклоартанового типа и стероиды [7].

**Цель исследования** – изучение антимикробного действия экстрактов высших растений *M. fistulosa* и *B. officinalis* относительно возбудителя кандидозов *Candida albicans* и ряда патогенных бактерий с целью оценки перспектив их использования для разработки лекарственных препаратов направленного действия.

**Материалы и методы.** Для получения экстрактов использовали растения *M. fistulosa* (надземную часть) и *B. officinalis* (подземные органы), выращенные на экспериментальном участке Центрального

сибирского ботанического сада СО РАН. Семена монарды были получены из ВНИИ ССОК (Московская область), корневища змеевика для посадки были собраны в долине реки Башкаус на высоте 1368 м над уровнем моря (Улаганский район Республики Алтай). Водные и водно-этанольные (40%-ный этанол) экстракты получали 3-кратной экстракцией на кипящей водяной бане с последующей фильтрацией через бумажные фильтры. Для получения экстрактов сырье брали в соотношении с экстрагентом 1: 10 и 1: 20.

В работе использовали штаммы *C. albicans* 620; *Staphylococcus aureus* 209-р; *Enterococcus faecium* 19434 ATCC, депонированные в Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” под коллекционными номерами Y-583, B-1266, B-1268, соответственно.

Антимикробную активность экстрактов при культивировании штаммов микроорганизмов определяли на агаризованной среде. Суточные агаровые культуры тест-штаммов суспендировали в физиологическом растворе до оптической плотности  $1-5 \times 10^5$  кл/мл и по 100 мкл равномерно распределяли на поверхности агаризованной питательной среды LB (Difco, США) в чашках Петри. В асептических условиях в засеянной агаровой пластинке вырезали лунки («колодцы»), вносили в них по 100 мкл испытуемых экстрактов и инкубировали в течение 24 часов, при температуре 37 °С. Положительный результат определяли по наличию вокруг лунки с экстрактом зоны подавления роста тест-штамма, в таблицах приведены средние данные по трем повторам опытов.

При определении антимикробной активности экстрактов при культивировании штаммов микроорганизмов в жидкой среде LB, готовили суспензии суточных культур тест-штаммов и по 0,1 мл добавляли в пробирки с опытными и контрольными вариантами. Аликвоты экстрактов вносили в засеянные пробирки по приведенной ниже схеме:

Вариант опыта	Объём добавляемого компонента (мл)		
	LB	Экстракт	Суспензия клеток
1	4,0	1,0	0,1
2	4,5	0,5	0,1
3	4,9	0,1	0,1

Инкубировали высевы на термостатированной качалке, в течение 24 ч, при температуре 37 °С. Контролем служила среда LB, где

аналогичным образом вносили вместо экстракта физиологический раствор. После культивирования готовили 10-кратные разведения культуральных жидкостей и высевали их на агаризованные среды для установления титра клеток в опытных вариантах и контроле.

**Результаты и обсуждение.** Проведенные ранее исследования по культивированию *M. fistulosa* в условиях лесостепной зоны Западной Сибири (окрестности г. Новосибирска) показали, что растения этого вида хорошо переносят суровые сибирские зимы, сохраняя характерный биохимический состав растительной массы [8]. Основные компоненты эфирного масла были представлены тимолом (56,3%), карвакролом (5,4%) и линалоолом (20,6 %) [9]. Водные и водно-этанольные экстракты *M. fistulosa* и *B. officinalis* были исследованы на наличие антимикробной активности диффузионным методом и при добавлении экстрактов в жидкую среду культивирования микроорганизмов. При использовании диффузионного метода эффективная антикандидозная активность обнаружена у всех вариантов экстрактов обоих растений. Относительно бактерий *S. aureus* и *E. faecium* активными в условиях опыта были только экстракты монарды. Наблюдалась зависимость проявления антимикотического действия препаратов от условий экстракции (табл. 1).

Таблица 1. Определение антибиотической активности экстрактов *M. fistulosa* и *B. officinalis* диффузионным методом

Растение	Вариант экстракта	Разведение	Тест-штамм/Зона лизиса, мм		
			<i>S. aureus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>C. albicans</i>
<i>M. fistulosa</i>	в-э	1:10	30	25	30
		1:20	13	0	12
-«-	в	1:10	0	0	30
		1:20	28	0	15
<i>B. officinalis</i>	в-э	1:10	0	0	30
		1:20	0	0	15
-«-	в	1:10	0	0	25
		1:20	0	0	17

Обозначения: «в» – водный, «в-э» – водно-этанольный экстракт.

Добавление экстрактов в жидкую среду культивирования тест-штаммов показало сходные результаты. Наиболее эффективно

размножение штамма *C. albicans* подавлялось водно-этанольным экстрактом *M. fistulosa*: концентрация клеток кандиды снижалась на 3–4 порядка при всех используемых дозах внесения образца в среду культивирования. В варианте с водно-этанольным экстрактом *B. officinalis* наблюдали зависимость титра клеток *C. albicans* от дозы добавляемого образца. Испытуемый водный экстракт *M. fistulosa* в условиях опыта был неэффективен (табл. 2).

Таблица 2. Титр клеток тест-штамма *C. albicans* 620 в зависимости от концентрации и состава вносимого в среду культивирования растительного экстракта (разведение 1: 10)

Экстракт		Объем вносимого экстракта (мл)/ титр (кл/мл)		
Растение	Вариант экстракта	1,0	0,5	0,1
<i>M. fistulosa</i>	в	$6,2 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$3, 2 \times 10^7$
-«-	в-э	$2,4 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$	$9, 1 \times 10^4$
<i>B. officinalis</i>	в	$3,9 \times 10^6$	$3,5 \times 10^6$	$3, 3 \times 10^7$
-«-	в-э	$1,7 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$
-	Контроль (б/д)	$4,4 \times 10^8$	$2,6 \times 10^7$	$3, 3 \times 10^7$

Обозначения: «в» – водный, «в-э» – водно-этанольный экстракт, «б/д» – среда без добавок экстрактов.

При внесении в среду культивирования водно-этанольного экстракта *M. fistulosa* в дозе 4:1, титр клеток *S. aureus* снижался в сравнении с контролем в среднем на два порядка, в варианте со штаммом *E. faecium* – на четыре порядка, что можно оценивать как достаточно высокую антибактериальную активность данного экстракта (табл. 3; см. след стр.).

**Заключение.** Водные и водно-этанольные экстракты монарды дудчатой и змеевика лекарственного обладают выраженной антимикотической активностью против *C. albicans* и могут быть рекомендованы для разработки узконаправленного лекарственного или профилактического препарата при лечении кандидозов. Наличие антибиотического действия экстрактов относительно *S. aureus* и *E. faecium* может быть полезно для лечения бактериальных инфекций сопутствующих микозам.

Таблица 3. Титр клеток тест-штаммов *S. aureus* 209-р и *E. faecium* 19434 АТСС в зависимости от концентрации внесомого в среду культивирования водно-этанольного экстракта *M. fistulosa* (разведение 1:10)

Экстракт	Штамм / объем экстракта (мл)/ титр (кл/мл)					
	<i>S. aureus</i> 209-р			<i>E. faecium</i> 19434 АТСС		
	1,0	0,5	0,1	1,0	0,5	0,1
в-э	$8,13 \times 10^6$	$1,07 \times 10^7$	$1,06 \times 10^{10}$	$4,4 \times 10^4$	$1,19 \times 10^8$	$1,40 \times 10^8$
Контроль (6/д)	$9,11 \times 10^8$	$2,60 \times 10^9$	$7,80 \times 10^9$	$5,5 \times 10^8$	$3,40 \times 10^8$	$2,73 \times 10^8$

### Список литературы

1. Елинов Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека . Пробл. мед. микологии. 2002; 4(4): 3-7.
2. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. М.: Бином, 2003: 440 с.
3. Высочина Г.И., Якимова Ю.Л., Волхонская Т.А. Монарда – уникальное растение биоцидного действия. Матер. II Росс. науч.-практ. конф. “Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами”. М. 2003: 45-6.
4. Adiba M., Hussain M. T. A review on *Polygonum bistorta* L. with reference to its pharmacology & phytochemistry. *Global J Res Med Plants Indigen Med.* 2013; 2(9): 669-74.
5. Gstirner F, Hopmann H. Isolierung von Cathechin aus Rhizoma *Bistortae*. *Arch Pharmazie.* 1953; 286(3): 150-3.
6. Smolarz H. D. Chromatographical analysis of phenolic acids in some species of *Polygonum* L. genus. Pt. 2. Quantitative determination of the major components by HPLC. *Acta Soc Botan Poloniae.* 2000. 69(1): 21-3.
7. Manoharan K P, Benny T Kh., Yang D W. Cycloartane type triterpenoids from the rhizomes of *Polygonum bistorta*. *Phytochemistry.* 2005; 66(19): 2304-8.
8. Васильева О.Ю., Высочина Г.И., Волхонская Т.А. Способ выращивания монарды дудчатой в Западной Сибири. Россия. Патент №2250596 от 27.04.2005 г.
9. Опарин Р.В., Покровский Л.М., Высочина Г.И., Ткачев А.В. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda didyma* L., культивируемых в условиях Западной Сибири. *Химия растит. сырья.* 2000; 3: 19-24.

## АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОПИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ КОЖИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖАМ *CANDIDA ALBICANS*

Арзумян В.Г., Шмелёва О.А.

НИИ вакцин и сывороток имени И.И.Мечникова, Москва

Представители резидентной микрофлоры кожи призваны защищать свою эконишу от посторонних микроорганизмов. Так, нами были описаны микоцины – вещества, выделяемые дрожжами *Malassezia* spp. и способствующие защите кожи от прочих дрожжевых организмов [1]. Наиболее многочисленным видом микроорганизмов, обитающих на коже человека, являются пропионовые бактерии. Как и многим другим представителям прокариот, пропионовым бактериям свойственно выделять антагонистические субстанции – бактериоцины [2].

В литературе описаны бактериоцины пропионовых бактерий, родственных кожным видам – *Propionibacterium thoenii* [3], которые активны в отношении некоторых грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также некоторых видов сапрофитных мицелиальных грибов и дрожжей. Есть также данные о бактериоциноподобном веществе – акнецине – из *Propionibacterium acnes*, выделенных из ротовой полости [4]. Это вещество было получено путем разрушения клеток бактерий и проявляло активность лишь в отношении *P. acnes* и близкородственного *Corynebacterium parvum*. Целью настоящего исследования явилось изучение антагонистической активности пропионовых бактерий кожи по отношению к грибам а *Candida*, поскольку грибы именно этого рода чаще всего встречаются на коже пациентов с атопическим дерматитом и микозами кожи.

В качестве штамма – источника антагонистической активности – был взят изолят пропионовых бактерий, выделенный с кожи здорового человека и состоящий из *P. acnes* и *P. avidum* в соотношении 5:1. Ранее нами показано, что изоляты, полученные от носителей, практически невозможно разделить на виды традиционными методами [5]. Данный изолят пропионовых бактерий культивировали до поздней стационарной фазы на полноценной питательной среде с Твин-80 и 0,1%-ной агарозой во флаконах без перемешивания. Полученную культуру разделяли центрифугированием, супернатант фильтровали через мембрану 0,22 мкм и порциями замораживали (препарат А). В качестве индикаторной культуры использовали

коллекционный штамм *S. albicans* № 4387, выращенный на чашках со средой ГПД до конца экспоненциальной фазы. Аликвоту суспензии клеток *S. albicans* соединяли с аликвотой препарата А и инкубировали при 320С в течение 2 ч (контроль – вместо препарата А брали равный объем физраствора). После инкубации клетки отделяли центрифугированием, окрашивали бромкрезоловым пурпурным и микроскопировали. Процент клеток, убитых в процессе инкубации с препаратом А подсчитывали с учетом числа мертвых клеток в контроле. Препарат А делили на фракции путем фильтрования через мембранные фильтры «Microcon» с порами на 3, 10 и 30 кДа, после чего полученные супернатанты анализировали на антагонистическую активность тем же способом. Кроме того препарат А подвергали автоклавированию и также проверяли на наличие активности. Результаты приведены в таблице.

Название препарата	Соответствующая активность, % убитых клеток <i>S. albicans</i>
Исходный препарат А	59,4 ± 2,7
Автоклавированный препарат А	34,5 ± 3,5
Препарат А, фильтрованный через мембрану 3 кДа	54,9 ± 1,8
Препарат А, фильтрованный через мембрану 10 кДа	61,7 ± 2,9
Препарат А, фильтрованный через мембрану 30 кДа	60,6 ± 3,1

**Выводы.** Исходя из полученных результатов можно заключить, что антагонистическая активность пропионовых бактерий, выделенных с кожи человека, по отношению к грибам *S. albicans* действительно имеет место. Поскольку долю мертвых клеток оценивали путем окрашивания их бромкрезоловым пурпурным, который проникает через поры в мембране погибших клеток, то можно сделать вывод о механизме действия бактериоцинов – они нарушают целостность цитоплазматической мембраны дрожжей. Противогрибковая активность пропионовых бактерий сосредоточена в основном в низкомолекулярной фракции ( $\leq 3$  кДа) и состоит из двух компонентов – термолabileного (скорее всего, полипептидного) и термостабильного. Ранее описанный акнецин [4] обладал

очень узким спектром действия (2 вида бактерий) и полностью потерял активность при термообработке и действии протеаз. Итак, обнаружен еще один вид антагонистической активности пропионовых бактерий, подтверждающий тезис о защитной функции комменсальной микробиоты кожи [6].

### Список литературы

1. Новое в систематике и номенклатуре грибов. Под ред. Ю.Т. Дьякова и Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микол.; Изд-во «Медицина для всех». 2003: 474.
2. Блинкова Л.П. Бактериоцины – антибактериальные биологически активные вещества пробиотических и клинических штаммов. Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. 2010; 3(39): 48.
3. Lyon W.J., Glatz B.A. Partial purification and characterization of a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. Appl. Environ. Microbiology. 1991; 57(3): 701-6.
4. Fujimura S, Nakamura T. Purification and properties of a bacteriocin-like substance (Acnecin) of oral *Propionibacterium acnes*. Antimicrob. agents chemother. 1978; 1(6): 893-8.
5. Гуридов А.А., Арзуманян В.Г. Сообщества пропионовых бактерий кожи и их культивирование. Всеросс. н.-практ. конф. по мед. микробиол. клин. микол. (XVI Кашкинские чтения). Июнь 2014. СПб. Пробл. мед. микол. 2014; 16(2): 60.
6. Christensen GJM, Brüggemann H. Bacterial skin commensals and their role as host guardians. Benef Microbes. 2014; 5(2): 201-15.

## МИКОБИОТА И АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ *LAURUS NOBILIS* L. И *ACORUS CALAMUS* L.

Бахшалиева К.Ф., Намазов Н.Р., Гаджиева Н.Ш.,  
Алиева Л.Н.

Институт микробиологии НАН Азербайджана, Баку  
Сумгаитский государственный университет, Азербайджан

Как известно, возрастающее влияние человеческой деятельности на природную среду приводит к деградации растительного покрова и резкому сокращению естественных ресурсов многих ценных дикорастущих растений, что в свою очередь способствует быстрым и глубоким, даже иногда необратимым изменениям растительного покрова. В результате сокращаются запасы и ареалы многих дикорастущих растений, в том числе лекарственных и кормовых.

Грибы на земном шаре встречаются преимущественно на растениях и в местах наличия гетеротрофного питания и органических соединений. Заражая отдельные органы или всё растение, эти фитопатогены нарушают нормальные жизненные процессы, что приводит к преждевременной гибели растения [6].

Несмотря даже на то, что лекарственные растения обладают антифунгальной и антибактериальной активностью [4], они тоже подвергаются патологии, вызванной теми же грибами и бактериями, результатом которого также отрицательно отражается на ресурсах лекарственных растений.

Как известно, интенсивное развитие болезни зависит как от биологических особенностей растения и патогена, так и от условий окружающей среды. Поэтому, при всестороннем изучении патогенов, важное значение имеет изучение причины болезни, взаимоотношений патогена и растения-хозяина, факторов, влияющих на развитие патологического процесса.

В этой связи в представленной работе исследовалась микобиота распространенных на территории Азербайджана лекарственных растений *Laurus nobilis* L. и *Acorus calamus* L [1].

Взятие образцов, выделение грибов в чистую культуру проводили согласно методу, используемому в микологии [2]. Идентификацию грибов проводили по определителю [3, 5–6], который составлен по культурально-морфологическим и физиологическим признакам грибов. При изучении таксономии микобиоты, формирующейся на растениях *Laurus nobilis* L. и *Acorus calamus* L., были обнаружены

следующие грибы – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fuzarium*, *Botrytis*, *Rhizobus* (табл. 1), многие виды которых являются фитопатогенными [3].

Таблица 1. Таксономические структуры грибов, обнаруженных на растениях

Вид растения	Род грибов	Патогенные грибы
<i>Laurus nobilis</i> L.	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.)Keissl.
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus flavus</i> Link.
		<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.
<i>Acorus calamus</i> L.	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.)Keissl.
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium hirsutum</i> Dierckx.
		<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom.
	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillusniger</i> Tiegh.
	<i>Botrytis</i>	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.
	<i>Epicoccum</i>	<i>Epicoccum nigrum</i> Link.
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.	

Как видно из табл. 1, в микобиоте растения *Laurus nobilis* обнаружены только два рода грибов – *Alternaria* и *Aspergillus*, а микобиота *Acorus calamus* L. представлена 6 родами – *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Fusarium*.

Как отмечалось выше, лекарственные растения обладают антифунгальным и антимикробным действиями. В этой связи, в ходе исследований также изучена антифунгальная активность данных растений, для чего использовали их водный экстракт (ВЭ). ВЭ, после стерилизации (45 мин, 0,5 атм) добавляли в одинаковом количестве (10 мл на 100 мл среды) в среду Чапека, где культивировали грибы *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* и *Aspergillus ochraceum*. В качестве контроля использовалась среда Чапека без ВЭ. Затем все колбы помещали в термостат на 7 суток при температуре 25–27°C. После истечения 7 сут инокулят разделяли центрифугированием и определяли количество биомассы грибов по сухому весу. Результаты показали (рис. 1), что ВЭ, полученный из растений *Laurus nobilis* L. обладает высокой антифунгальной активностью и подавляет рост грибов – *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceum* и *Fusarium oxysporum*. Эти результаты, полученные в отношении *Laurus nobilis* L., открывают перспективу получения новых препаратов.

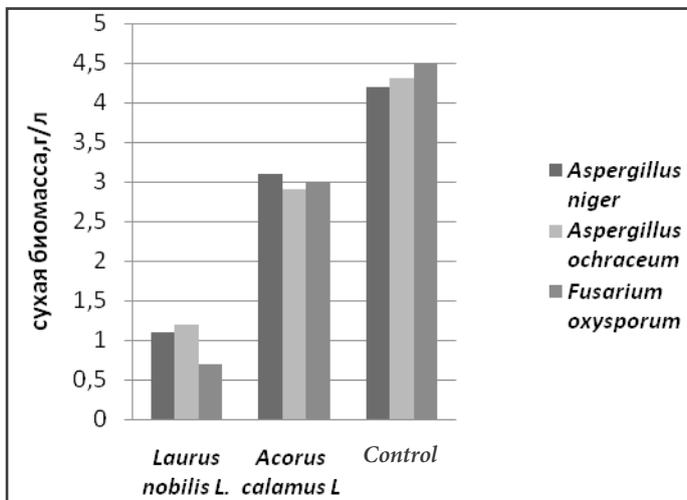


Рис. 1. Рост биомассы тест-культуры *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceum*, *Fusarium oxysporum* в водных экстрактах на растениях: *Laurus nobilis L.* и *Acorus calamus L.*

**Вывод.** Установлено, что лекарственные растения, обладающие более высокой антифунгальной активностью, характеризуются обедненной фитопатогенной микобиотой.

### Список литературы

1. Дамиров И.А., Прилипко Л.И., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б. Лекарственные растения Азербайджана. Баку: Из-во «Маариф», 1988: 320 с.
2. Методы экспериментальной микологии. Под. ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка. 1982: 500 с.
3. Саттон Д., Фотергилл А., Риналди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир. 2001: 486 с.
4. Salmurova A, Duncan BP, Bahshaliyeva K et al. Antifungal activity of the essential oils *Pyrethrum letophyllum* Stev. ex. Bieb. J Resid Sci & Techn (USA). 2010; 7(3): 187-90.
5. Booth C. The genus *Fusarium*. Common. Mycol. Inst., Kew, 1971: 608 p.
6. Kirk PM, Cannon PF, Minter DW et al. Ainsworth & Bisby's Dictionary of Fungi. CAB Intern. 2008: 771 p.

## ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *ASPERGILLUS NIGER* К АНТИМИКОТИКАМ

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

<sup>1</sup>Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии,  
<sup>2</sup>Казанский Приволжский Федеральный Университет, Казань

За последние десятилетия грибковые инфекции стали важной проблемой здравоохранения во многих странах мира [1-4]. Все большее значение приобретают потенциально патогенные грибы, широко распространенные в окружающей среде, и в то же время способные вызывать грибковые заболевания. Один из таких видов, *Aspergillus niger*, в последние годы является одной из самых распространенных причин отомикозов, а также может быть сопутствующим при дерматитах, приводя к инфекционным осложнениям.

**Цель работы** – изучить влияние ионов меди и цинка на чувствительность клинических штаммов *Aspergillus niger* к антимикотикам.

**Материалы и методы.** В работе использовано 7 штаммов *A. niger*, выделенных от пациентов с отомикозами или дерматитами. Штаммы УК-1, УК-2, УК-3 выделены от больных отомикозами. Штаммы 3413, 3415, 3376, 3411 – от больных дерматитами.

Забор клинического материала проводили при помощи стерильного ватного тампона с последующим смывом стерильной дистиллированной водой. Посев смыва проводился на агаризованную среду Чапека и модифицированную среду Сабуро. После выделения возбудителя, проводили выделение чистой культуры. Исследуемую культуру выращивали на чашках с модифицированной средой Сабуро с добавлением 1мл 1М, 0,5М и 0,1М растворов  $\text{CuSO}_4$  на поверхность питательной среды. Плесневые грибы выращивали при 30 °С в течение 5 сут.

Изучена чувствительность выделенных штаммов *Aspergillus niger* к тербинафину и флуконазолу. Исследование антимикотической активности проводили диско-диффузным методом на чашках с модифицированной средой Сабуро. На поверхность питательной среды наносили исследуемую культуру и затем помещали диски, содержащие определенное количество антимикотика. Гифомицеты выращивали при 30 °С в течение 5 сут.

Результат учитывали путем измерения диаметра зоны лизиса вокруг диска.

**Результаты.** В ходе проведенных исследований было установлено, что ионы меди и цинка могут оказывать влияние на степень чувствительности *Aspergillus niger* к антимикотическим препаратам (табл. 1). Изначально все клинические штаммы обладали чувствительностью к тербинафину и были устойчивы к флуконазолу.

Под действием ионов меди было отмечено снижение чувствительности к тербинафину штаммов УК-1, УК-3. В остальных случаях добавление  $\text{CuSO}_4$  в питательную среду приводило к тому, что чувствительность к препарату увеличивалась. Диаметр зоны лизиса при этом увеличивался в 1,5–2 раза. Высокие концентрации металла негативно влияли на рост некоторых штаммов. Так, наблюдалось полное ингибирование роста двух штаммов *A. niger* (3376 и УК-3) на среде с 1 мл 1М раствора  $\text{CuSO}_4$ . Влияние ионов цинка проявлялось в меньшей степени. Так, при добавлении 1мл 0,1М раствора  $\text{ZnSO}_4$  чувствительность штамма УК-2 не изменялась, у штамма УК-1 наблюдалось снижение чувствительности, а штаммы 3376 и 3411 становились резистентными к тербинафину. В то же время, повышение концентрации солей цинка, наоборот, приводило к усилению действия препарата на исследуемые штаммы.

Все исследуемые штаммы были резистентны к действию флуконазола, однако при добавлении в среду 1мл 1М раствора  $\text{CuSO}_4$  у штамма УК-2 появилась чувствительность к флуконазолу, но при увеличении концентрации солей меди в среде, чувствительность к антимикотику снижалась. Появление слабой чувствительности к флуконазолу было отмечено также у клинического штамма 3376 при добавлении в среду 1мл 0,1М раствора  $\text{ZnSO}_4$ .

Наблюдалось полное ингибирование роста двух штаммов *A. niger* (3376 и 3430) при добавлении 1 мл 1М раствора  $\text{CuSO}_4$  и всех штаммов при добавлении 1мл 0,1М раствора  $\text{ZnSO}_4$ . Следует отметить, что штаммы, выделенные с кожи, отличались более высокой чувствительностью к тербинафину при добавлении в среду  $\text{CuSO}_4$ .

**Выводы.** Показано, что добавление в среду солей меди и цинка влияет на чувствительность клинических штаммов *Aspergillus niger* к противогрибковым препаратам. Отмечена зависимость чувствительности микромицетов к антимикотическим препаратам от концентрации меди и цинка

Полученные данные позволяют предположить, что тяжелые металлы воздействуют на процесс синтеза эргостерола, возможно, за счет влияния на сквален-эпоксидазу. Вероятно также, что

Таблица 1. Чувствительность *Aspergillus niger*, выращенных на среде с добавлением ионов  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  к антимикотикам, см.

			УК-1	УК-2	УК-3	3376	3411	3413	3415
Тербинафин	К		1,5	1,0	1,0	1,0	1,5	1,0	1,0
	CuSO <sub>4</sub>	0,1	1,1	2,0	1,0	1,5	3,0	2,0	1,5
		0,5	1,5	2,0	0,3	1,3	3,0	2,0	2,0
		1	1,2	2,0	Нет роста	Нет роста	3,0	2,0	2,0
	ZnSO <sub>4</sub>	0,1	1,0	1,0	1,0	-	-	1,0	1,0
		0,5	1,0	1,0	1,5	1,0	1,5	1,5	1,5
1		Нет роста							
Флуконазол	К		-	-	-	-	-	-	-
	CuSO <sub>4</sub>	0,1	-	0,7	-	-	-	-	-
		0,5	-	0,3	-	-	-	-	-
		1	-	0,2	Нет роста	Нет роста	-	-	-
	ZnSO <sub>4</sub>	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-
		0,5	-	-	-	-	-	-	-
1		Нет роста							

тяжелые металлы оказывают влияние на раннюю стадию синтеза стерина в клетках микромицетов. Данный процесс требует более детального изучения.

### Список литературы

1. Левин С.В. Гузев В.С., Асеева И.В. и др. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту. Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989: 5-46.
2. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Нац. акад. микол. 2005: 196 с.
3. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциально патогенные микелиальные грибы в среде обитания человека. Усп. мед. микол. 2003; 1: 235-66.
4. Аравийский Р.А., Клишко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. СПб.: Изд. дом МАПО. 2004: 186 с.

## НАНОПРОИЗВОДНЫЕ ТЕТРАЕНОВЫХ МАКРОЛИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ: ПОЛУЧЕНИЕ И МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Белахов В.В.<sup>1</sup>, Гарабаджиу А.В.<sup>2</sup>, Колодязная В.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Технион – Израильский институт технологии  
(химический факультет), Хайфа, Израиль;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский ГТУ (лаборатория молекулярной  
фармакологии)

<sup>3</sup>Санкт-Петербургская государственная химико-  
фармацевтическая академия

Рост грибковых заболеваний вызывается продолжающимся загрязнением окружающей среды, нерациональным применением антибактериальных антибиотиков широкого спектра действия, интенсивным использованием цитостатиков, иммунодепрессантов, проведением реанимационных мероприятий, часто связанных с катеризацией, и рядом других факторов [1, 2].

В этой связи разработка и введение в медицинскую практику новых противогрибковых препаратов является актуальной задачей. Однако отмечаемый прогресс в создании новых антимикотиков не в полной мере соответствует темпам роста микологических заболеваний, причем основными лимитирующими факторами являются проблема переносимости системных антифунгальных препаратов и развитие резистентности к ним возбудителей грибковых инфекций [3, 4]. Одной из групп противогрибковых препаратов являются полиеновые макролидные антибиотики, широко используемые в медицинской практике для лечения как поверхностных, так и глубоких микозов [5, 6]. Вместе с тем, терапевтическая эффективность полиеновых макролидных антибиотиков существенно ограничена из-за высокой токсичности (главным образом, нефротоксичности), нерастворимости в воде, повышенной лабильностью при хранении, а также в связи со снижением чувствительности патогенных грибковых микроорганизмов к их действию [7, 8]. Ввиду этого поиск новых производных полиеновых макролидных антибиотиков с улучшенными медико-биологическими свойствами продолжается. К настоящему времени в литературе описан целый ряд малотоксичных высокоэффективных полусинтетических производных ПМА [9-11].

В последние годы получены различные производные амфотерицина В: липосомальные препараты (AmBisome), липидные комплексы (Abelcet) и коллоидные дисперсии (Amphocil), а также

липосомальный препарат нистатина (Nyotran) [12, 13]. Значительная роль в этом направлении отводится применению нанотехнологии, так как нанотехнологические исследования в медицине сосредоточены на получении препаратов нового поколения, отличающихся более эффективным способом доставки лекарственных средств [14-16]. Целенаправленный скрининг нанопроизводных ПМА является в настоящее время перспективным направлением получения их стабильных производных с выраженной противогрибковой активностью [17, 18].

Нами были получены нанопроизводные (наночастицы) тетраеновых макролидных антибиотиков (ТМА) пимарицина (натамицина), нистатина А1, люцензомицина и тетраамицина В, покрытые поверхностно-активным веществом – твин-80. Получение нанопроизводных ТМА включает в себя две стадии:

1. Синтез сополимера D,L-лактида (ЛД) и полиэтиленгликоля (ПЭГ).

ПЭГ (молекулярный вес 4000 г/мол) перед использованием сушили в вакууме 10 ч при 80оС. ЛД (40 г) и ПЭГ (10 г) помещали в лабораторный реактор из нержавеющей стали, добавляли каталитическое количество каприлата олова  $[Sn(Oct)_2]$ , а затем выдерживали реакционную массу 30 мин при высоком вакууме. После этого реакционную смесь нагревали 8 ч при 170оС в атмосфере аргона, затем её охлаждали до комнатной температуры, растворяли в этилацетате (150 мл), к полученному раствору добавляли n-гептан (800 мл), осадок фильтровали, промывали дистиллированной водой, и сушили в вакууме при 50°С в течение 5 суток. Получали сополимер ЛД-ПЭГ с молекулярной массой 5220 г/мол (определена методом гель-проникающей хроматографии).

2. Использование сополимера ЛД-ПЭГ для получения наночастиц ТМА.

500 мг сополимера ЛД-ПЭГ и 10 мг ТМА растворяли в смеси 25 мл безводного ацетона и 1 мл безводного диметилсульфоксида. После этого полученный раствор добавляли капельно при интенсивном перемешивании к водному (10 %) раствору твина-80, помещенного в специальный лабораторный реактор. Полученная суспензия была гомогенизирована с помощью ультразвука в течение 20 мин, затем размер наночастиц был измерен с помощью метода динамического рассеивания света. После смешения реагентов проводили перемешивание ещё в течение 30 мин, а затем закрыли реактор специальными макропористыми пробками и поместили его в защищенное от света место при комнатной температуре. Ацетон испарялся в тече-

ние 3 сут при комнатной температуре. Метод получения приводит к образованию наночастиц ТМА сферической формы диаметром  $120 \pm 15$  нм (использовали метод динамического рассеивания света).

В связи с тем, что ТМА (главным образом, пимарицин и нистатин) находят применение для лечения многих клинических форм кандидозов [19, 20], биологические испытания их нанопроизводных были проведены в отношении ряда тест-культур дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Так, биологическими исследованиями показано, что нанопроизводные ТМА обладали высокой антифунгальной активностью в отношении 11 тест-культур дрожжеподобных грибов рода *Candida* spp.: *C. albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. lipolytica*, *C. norvegensis*, *C. parapsilosis*, *C. a kefyri* и *C. guilliermondii*, минимальная концентрация 1,56 до 12,5 мкг/мл.

**Выводы.** В результате проведенных исследований обнаружено, что нанопроизводные ТМА, полученные с помощью разработанной методики, позволили существенно улучшить стабильность и биофармацевтические свойства этих антифунгальных антибиотиков. В этой связи получение нанопроизводных полиеновых макролидных антибиотиков может рассматриваться в качестве весомой альтернативы химической модификации этих антифунгальных препаратов, учитывая сложность их химических структур и высокую лабильность.

### Список литературы

1. Gupte M, Kulkarni P, Ganguli BN. Antifungal antibiotics. Appl Microbiol Biotechnol. 2002; 58(1): 46-57.
2. Kathiravan MK, Salake AB, Chothe AS et al. The biology and chemistry of antifungal agents: a review. Bioorg. Med. Chem. 2012; 20(19): 5678-98.
3. Веселов А.В. Системные антимикотики: состояние и перспективы. Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. 2007; 9(1): 73-80.
4. Sanglard D, Coste A, Ferrari S. Antifungal drug resistance mechanisms in fungal pathogens from the perspective of transcriptional gene regulation. FEMS Yeast Res. 2009; 9(7): 1029-50.
5. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. М.: Бином, 2008: 108-22.
6. Zotchev SB. Polyene macrolide antibiotics and their application in human therapy. Curr Med. Chem. 2003; 10(3): 211-23.
7. Hamdan JS, Hahn RC. Antifungal drugs for systemic mycosis: an overview of mechanism of action and resistance. Anti-Infective Agents in Med Chem. 2006; 5(4): 403-12.

8. Kovacic P., Cooksy A. Novel, unifying mechanism for amphotericin B and other polyene drugs: electron affinity, radicals, electron transfer, autoxidation, toxicity, and antifungal action. *Med Chem Commun.* 2012; 3(3): 274-80.
9. Sedlak M. Amphotericin B: from derivatives to covalent targeted conjugates. *Mini-*rev in med chem.** 2009; 9(11): 1306-16.
10. Соловьева С.Е., Олсуфьева Е.Н., Преображенская М.Н. Химическое модифицирование противогрибковых макролидных полиеновых антибиотиков. *Усп. хим.* 2011; 80 (2): 115-38.
11. Белахов В.В., Колодязная В.А., Гарабаджиу А.В. Химическая модификация гептаенового макролидного антибиотика амфотерицина В в условиях реакции Тодда-Атертона. *Журн. общ. хим.* 2014; 84 (10): 1676-84.
12. Arican S., Rex J.H. Lipid-based antifungal agents: current status. *Current Pharmaceutical Design.* 2001; 7 (5): 393-415.
13. Torrado JJ, Espada R, Ballesteros MP, Torrado-Santiago S. Amphotericin B formulations and drug targeting. *J Pharm Sci.* 2008; 97(7): 2405-25.
14. Пул Ч., Оуэнс Ф. Нанотехнологии. М.: Техносфера. 2007: 271-90.
15. Газит Э. Нанобиотехнология: необъятные перспективы развития. М.: Научный мир. 2011: 83-91.
16. Fulekar MH. Nanotechnology: importance and applications. New Delhi: I.K. Int. Publ. House Pvt Ltd. 2010: 175-82.
17. Barratt G., Bretagne S. Optimizing efficacy of amphotericin B through nanomodification. *Intern J Nanomed.* 2007; 2(3): 301-13.
18. Surendiran A., Sandhiya S., Pradan S.C., Adithan C. Novel applications of nanotechnology in medicine. *J Med Res.* 2009; 130(12): 689-701.
19. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. М.: Триада-Х. 2000: 184-8.
20. Козлов С.Н., Страчунский Л.С. Современная антимикробная химиотерапия. М.: ООО Мед. информ. агентство. 2009: 191-7.

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОСОМ

Иванова Н.Н., Олейник И.А.

Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины, Харьков

Широкое распространение в мире приобрели штаммы микроорганизмов, резистентные почти ко всем доступным антибиотикам. Кроме того, продолжительное применение высоких терапевтических доз антимикотиков влияет на организм вследствие их токсичности. Большие дозы и продолжительность применения антимикотиков приводят к побочным действиям со стороны органов системы пищеварения. Переход к наноразмерам в медицине открывает перед нею новые возможности. Лекарства, упакованные в наночастицы, становятся более эффективными и безопасными, попадают к органам-мишеням и позволяют снизить терапевтическую дозу препарата, которое используется для лечения грибковых инфекций, а также сократить сроки лечения, снизить его токсичность.

Цель исследования – получение липосомальных форм антимикотиков на примере тербинафина, изучение его ингибирующих свойств по отношению к планктонным клеткам и биопленкам в опытах *in vitro*.

В результате определения минимально подавляющих концентраций (МПК) липосомальных препаратов, было найдено, что липосомы, полученные на основе яичного лецитина и тербинафина более эффективны, чем субстрат тербинафина в отношении грибов *Candida albicans* и *C. parapsilosis*.

Лецитиновые липосомы, содержащие олеиновую кислоту, уменьшали МПК интактного тербинафина при действии на планктонные грибы *C. parapsilosis* и при действии на грибы *Malassezia furfur* в 3–7 раз. Использование отрицательно заряженных липосом, содержащих тербинафин, увеличивало процент включения тербинафина в липосомы и существенным образом уменьшало его МПК в отношении грибов *C. albicans*, *C. parapsilosis* и *Malassezia furfur* в 6–14 раз.

Полученные результаты дают возможность прогнозировать использование липосомальных форм антимикотиков для повышения эффективности их фармакологического действия.

## ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА OBR-9926061 НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТКИ ГРИБА *CANDIDA ALBICANS* В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Казанская З.М., Грамматикова Н.Э., Брагина Е.Е.,  
Пушкина Т.В., Рябова О.Б., Макаров В.А., Суровцев В.В.

Инновационно-технологический центр «Биологически активные соединения и их применение» РАН, Москва

**Цель исследования** – изучение возможных морфологических изменений в клетках гриба *Candida albicans* в опыте *in vitro* под воздействием производного 2-нитроарилтиоцианатов (2НА).

**Методы.** Методом сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии на микроскопе Hitachi 700, изучено влияние производного 2-нитроарилтиоцианатов на ультраструктуру клеток гриба *C. albicans* в опытах *in vitro* в плотной среде Сабуро в концентрации 10 мкг/мл при экспозиции 24 и 48 ч.

**Результаты.** Соединение вызывает грубые изменения структуры гриба *C. albicans*. При исследовании в сканирующем электронном микроскопе в опыте 1 на периферической (неповрежденной) зоне культуры *C. albicans* выявлены округлые неповрежденные клетки гриба. Однако у единичных клеток на поверхности обнаруживались многочисленные почковидные выпячивания. На границе неповрежденной зоны и зоны лизиса выявлены клетки с большим количеством «почек» и клетки с аномальной морфологией.

В клетках *C. albicans*, взятых на границе неповрежденной части культуры и зоны лизиса, выявлены повреждения клеточной стенки гриба. В зоне почковидных выпячиваний видно нарушение структуры клеточной стенки – разрыв среднего маннопептидного слоя клеточной стенки. Кроме того, в этой культуре выявлены клетки с истонченным наружным слоем клеточной стенки и разреженной, иногда вакуолизированной цитоплазмой.

**Выводы.** 2НА вызывает изменение формы клеток гриба *C. albicans* и повреждение клеточной стенки с разрывом ее среднего слоя. Подтверждена эффективность производного 2-нитроарилтиоцианатов как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* на модели кандидоза кожи мышей, при местном применении.

## ТРИТЕРПЕНОВЫЙ САПОНИН ТАУРОЗИДУ ИЗ ПЛЮЩА КРЫМСКОГО КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ АНТИФУНГАЛЬНОЕ СРЕДСТВО

Кирсанова М.А., Криворутченко Ю.Л., Постникова О.Н.,  
Мясникова О.Н., Тышкевич Л.В.  
Крымский государственный медицинский университет имени  
С.И. Георгиевского, Симферополь

Сапонины – это группа гликозидов, которые присущи многим высшим растениям. На сегодняшний день у сапонинов выявлена противовоспалительная, антипаразитарная, антибактериальная, антифунгальная и противовирусная активность [1, 2]. Некоторые сапонины проявляют противоопухолевые и гемолитические свойства, снижают адгезивные способности микроорганизмов к клеткам организма человека [3].

Нами была изучено воздействие тритерпенового сапониона таурозида Sx1, выделенного из крымского плюща, на грибы *Candida*. Тритерпеновый сапонин таурозид Sx1 (3-O- $\alpha$ -L рамнопиранозил (1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина) из плюща крымского *Hedera taurica* Carr., был получен в Таврическом национальном университете и предоставлен для исследования профессором В.И. Гришковцом. В работе использовали референс-штаммы *C. albicans* ССМ 885, *Candida albicans* АТСС 885-663 и 104 изолята дрожжеподобных грибов, выделенных от здоровых и больных с различной патологией (стоматологические больные, большие язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ВИЧ-инфицированные дети и дети с соматической патологией).

Для выявления антифунгальных свойств исследования проводили *in vitro* на среде RPMI (метод серийных разведений), *in vivo* – на модели генерализованного кандидоза у мышей с применением гистологического метода, также изучали влияние вещества на адгезивные свойства грибов рода *Candida* к буккальным эпителиоцитам человека.

Установлено, что сапонин таурозид Sx1 подавлял рост изученных изолятов грибов рода *Candida* при МПК 125–500 мг/л. Таурозид Sx1 в концентрациях 125 и 62,5 мг/л снижал индексы адгезии и прочности адгезии *C. albicans* к буккальным эпителиоцитам человека.

При генерализованном кандидозе у мышей, терапевтическое введение таурозида Sx1 в дозах 50 и 150 мкг/мышь повышало выживаемость заражённых животных в 4 и в 7,7 раза соответственно.

Защитный эффект от введения таурозида Sx1 в дозе 150 мкг/мышь не уступал результату от введения амфотерицина В в дозе 5 мкг/мышь и подтверждался результатами патоморфологического исследования тканей инфицированных животных.

Введение таурозида Sx1 в дозе 150 мкг/мышь к 5-му дню эксперимента полностью предотвращало развитие таких воспалительных гнойно-септических процессов, как пневмония, абсцесс легкого и миокарда, образование септических тромбов. Введение сапонина препятствовало появлению таких признаков повреждения тканей, как эрозии с массивным некрозом слизистой оболочки кишечника, фокальный некроз гепатоцитов и инфаркт в почечной ткани.

Полученные данные позволяют обосновать возможность создания нового противокандидозного препарата на основе сапонина плюща крымского таурозида Sx1.

### Список литературы

1. Sparg SG, Light MT, van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharma.* 2004; 94: 219-43.
2. Maligina VYu. In vivo and in vitro study of triterpene glycoside saponin Sx1 effects on viral (influenza and HIV-1) infections. *Таврич. мед.-биол. вестн.* 2007; 10(3): 173-7.
3. Woldemichael GM. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *J Agricult Food Chem.* 2001; 49: 2327-32.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ ЭКСИМЕРНОГО ЛАЗЕРА НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Кирицидели И.Ю., Григорьева Н.О., Парфенов В.А.,  
Зверева Г.Н.

Ботанический институт им. В.Л.Комарова РАН,  
Санкт-Петербург  
НИУ ИТМО, СПбГЭТУ «ЛЭТИ», ГОИ им. С.И.Вавилова,  
Санкт-Петербург

Одной из групп микроорганизмов экстремальных местообитаний на континенте Антарктида являются микроскопические грибы, что позволяет рассматривать их как объекты для астробиологических исследований. В частности, климатические условия Антарктиды служат прекрасной астробиологической моделью Марса [1]. Географическая изолированность Антарктики, озоновые «дыры», а также низкие температуры должны приводить к формированию штаммов микроскопических грибов устойчивых к ультрафиолетовому облучению [2]. В достижении этой задачи на сегодня актуально применение таких источников УФ-излучения как лазеры, позволяющие проводить исследования воздействия ультрафиолетового излучения коротковолнового диапазона на микроскопические грибы. На микроорганизмы ультрафиолетовое излучение оказывает губительное и мутагенное действие (наиболее эффективно УФ-излучение с  $\lambda$  280–240 нм). Обычно спектр летального и мутагенного действия УФ-излучения примерно совпадает со спектром поглощения нуклеиновых кислот – ДНК и РНК.

В качестве экспериментального материала в работе использовались микроскопические грибы *Aureobasidium pullulans*, *Geomyces pannorum*, *Rhodotorula colostri* и *Thelebolus microsporus* выделенные из антарктических местообитаний. Идентификацию культур микроорганизмов проводили на основании культурально-морфологических признаков. Для подтверждения видовой принадлежности были использованы методы молекулярной идентификации культур микроскопических грибов.

Исходный материал (инокулюм) для облучения лазерным излучением ультрафиолетового диапазона выращивался в течении 10-25 дней на агаризованной среде Чапека [3]. Инкубация проводилась

при температуре 14 °С. Суспензию пропагул микроскопических грибов в количестве 20 мкл наносили на стерильное покровное стекло (1 x 1 см) и высушивали при комнатной температуре в течение 1–2 ч. Для проведения экспериментов по облучению образцов лазерным излучением ультрафиолетового диапазона был выбран эксимерный лазер CL7000, работающий на газовой смеси ArF с  $\lambda$  193 нм.

Покровное стекло с экспериментальными или контрольными образцами помещали в стерильную Чашку Петри (диаметр 90 мм) и проводили смыв суспензии 1,5 мл стерильной дистиллированной воды и затем заливали расплавленной и охлажденной до 40 °С питательной средой (агаризированной средой Чапека), равномерно распределяя суспензию спор в толще среды. В качестве контроля эффективности лазерной обработки использовались образцы, не подвергавшаяся лазерному излучению. Инкубация проводилась при температуре 14 °С. В течение 7 – 25 дней проводили подсчет жизнеспособных пропагул, способных образовывать новые колонии.

Наименее устойчивыми к воздействию данного лазера являются пропагулы микроскопических грибов рода *Rhodotorula*, гибель 70% изолятов достигалась при воздействии излучением лазера плотностью энергии 50 000 Дж/м<sup>2</sup>. Доля гибели пропагул микроскопических грибов *Aureobasidium* составляет 99,6% при воздействии лазера с плотностью энергии 70000 Дж/м<sup>2</sup>.

Пропагулы микроскопических грибов рода *Geomyces* оказались более устойчивыми к данному воздействию: даже при увеличении дозы облучения до 100 000 Дж/м<sup>2</sup> доля погибших пропагул данного микромицета составляла 91%. Гибель 95% пропагул микромицетов *Thelebolus* достигалась при воздействии излучением лазера плотностью энергии 200 000 Дж/м<sup>2</sup>.

Показано, что с увеличением концентрации спор процент их выживаемости растет и соответственно уменьшается процент гибели пропагул. При постоянной плотности энергии доля гибели КОЕ в наших исследованиях колебалась от 58 до 100% в зависимости от исходной концентрации пропагул. По-видимому, при высокой концентрации пропагул клетки микроскопических грибов частично перекрывают друг друга и воздействие лазерного излучения как бы гасится (поглощается) верхним слоем пропагул. Соответственно, чем выше концентрация пропагул, тем больше вероятность выживания клеток в процессе облучения лазером.

Было также исследовано влияние излучения эксимерного лазера на микромицеты рода *Aureobasidium* на различных стадиях его жизненного цикла. Хотя используемый в данных исследованиях

микробицет *Aureobasidium*, формально относится к темнопигментированным видам, меланин, защищающий микроскопический гриб от пагубного воздействия ультрафиолетового излучения, появляется у данного изолята *Aureobasidium* только через 6–8 мес его роста. В связи с этим был проведен эксперимент, сравнивающий процент гибели пропагул микробицета *Aureobasidium* как для непигментированных пропагул, так и для пигментированных (возраст культуры – 7 мес) в зависимости от плотности энергии. Подтверждена защитная способности меланина при облучении эксимерным лазером. Показано, что для темнопигментированных культур микробицетов требуется большая плотность энергии при обработке образцов для достижения летального эффекта.

Для исследования механизма воздействия излучения эксимерного лазера, приводящего к гибели пропагул микроскопических грибов нами, были проведены исследования структуры поверхности клеточной стенки после обработки микробицетов эксимерным лазером. Использование атомно-силовой микроскопии позволило зафиксировать изменение структуры поверхностей под влиянием обработки ультрафиолетовым излучением с длиной волны 193 нм ( $\lambda$  193 нм).

Авторы благодарят ресурсный Центр микроскопии и микроанализа СПбГУ за помощь в проведении микроскопических исследований.

### Список литературы

1. Василенко О.В., Чигинева Н. И., Фирсов С.Ю. и др. Микробиологические исследования Антарктиды как естественной астробиологической лаборатории на Земле. Иммунопатол., аллергол, инфектол. 2010; 1: 57.
2. Романовская В.А., Таширеву А.Б., Шилин С.О., Черная Н.А. Устойчивость к УФ излучению микроорганизмов, изолированных из наскальных биотипов Антарктики. Микробиол. журн. 2010; 72(3): 8.
3. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наук. Думка. 1982: 550 с.

## ИНГИБИРОВАНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ДОДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФОНИЕМ

Кнорре Д.А., Маркова О.В., Смирнова Е.А., Караваяева Ю.Е.,  
Соколов С.С., Северин Ф.Ф.

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова,  
Москва

**Введение.** Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) грибов позволяет им выживать в присутствии ксенобиотиков. Одним из компонентов МЛУ являются неспецифические ABC-транспортеры, локализованные в цитоплазматической мембране. Эти ферменты за счет энергии гидролиза АТФ выкачивают из цитоплазмы нежелательные для клетки вещества. В клетках *Saccharomyces cerevisiae* содержится 29 таких переносчиков [1], при этом субстратная специфичность некоторых из них чрезвычайно широка [2]. МЛУ грибов представляет собой проблему при лечении микозов, так как большая часть антимикотиков является субстратами ABC-транспортеров (см. [3]). Предпочтительным типом субстратов ABC-переносчиков являются гидрофобные катионы, такие как тетрафенилфосфоний [4].

**Цель исследования** – изучить, можно ли, используя гидрофобные катионы, преодолеть множественную лекарственную устойчивость дрожжей *S. cerevisiae*. Для исследования мы выбрали додецилтрифенилфосфоний (C12TRP, см. рис.), предположив, что благодаря положительному заряду и высокой гидрофобности данное вещество будет постоянно возвращаться в клетку и в то же время эффективно конкурировать с другими субстратами помп МЛУ.

**Результаты.** (1) Мы показали, что репрессия гена одного из ключевых ABC-переносчиков PDR5 приводит к значительному снижению выживаемости клеток в присутствии 5–30 мкМ додецилтрифенилфосфония. Сверхэкспрессия PDR5 не приводила к повышению устойчивости дрожжей к C12TRP, мы объясняем это тем, что в контрольных условиях уровень экспрессии PDR5 и так достаточно высок. Репрессия других помп МЛУ (SNQ1 и YOR1) не сенсibilизировала клетки дрожжей к додецилтрифенилфосфоню.

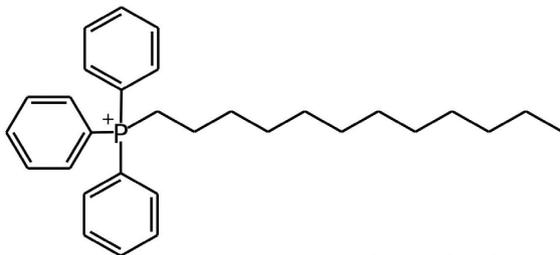
(2) 1 мкМ C12TRP увеличивал интенсивность окрашивания клеток дрожжей липофильным флуоресцентным зондом родамином 6G. Родамин 6G является охарактеризованным субстратом помп

МЛУ [2], поэтому увеличение концентрации этого зонда в клетке свидетельствует о снижении скорости его выкачивания из клетки. Это говорит об ингибировании помп МЛУ.

(3) Добавление С12ТРР ингибирует выход родамина 6G из клеток дрожжей. Этот эффект может быть обусловлен как конкурентным ингибированием помп МЛУ, так и действием С12ТРР на митохондрии, приводящему к деэнергизации клеток и снижению концентрации АТФ в клетке. Однако добавление анионного разобщителя, полностью диссипирующего потенциал на внутренней мембране митохондрий, не приводило к столь сильному ингибированию выброса родамина 6G, как в случае с С12ТРР.

(4) С12ТРР в концентрации до 1 мкМ не проявлял фунгицидных свойств, однако приводил к значимому увеличению цитостатического действия антимикотика клотримазола и ингибитора синтеза белка циклогесимида D. Поскольку оба этих соединения являются субстратами АВС-переносчиков дрожжей [5, 6], данный результат также свидетельствует об ингибирующем действии С12ТРР на МЛУ дрожжей.

**Вывод.** Липофильный катион С12ТРР является ингибитором МЛУ дрожжей. Высокое значение потенциала на плазматической мембране клеток грибов [7] и химическая природа С12ТРР предполагают, что подобное соединение должно эффективно накапливаться в мембранных компартментах клетки. Однако, являясь предпочтительным субстратом АВС-переносчиков, С12ТРР постоянно выкачивается из клетки. В результате может возникать футильный цикл, снижающий эффективность МЛУ. Мы предполагаем, что липофильные соединения можно использовать в антигрибковых композициях, увеличивая эффективность действия входящих в их состав антимикотиков.



Додецилтрифенилфосфоний (С<sub>12</sub>ТРР).

**Список литературы**

1. Decottignies A, Goffeau A. Complete inventory of the yeast ABC proteins. *Nat Genet.* 1997; 15(2): 137–45.
2. Kolaczkowski M, van der Rest M, Cybularz-Kolaczkowska A et al. Anticancer drugs, ionophoric peptides, and steroids as substrates of the yeast multidrug transporter Pdr5p. *J Biol Chem.* 1996 ; 271(49): 31543-8
3. Morschhäuser J. Regulation of multidrug resistance in pathogenic fungi. *Fungal Genet Biol.* 2010; 47: 94–106
4. Lewis K. In search of natural substrates and inhibitors of MDR pumps. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 2001; 3: 247–54.
5. Leppert G, McDevitt R, Falco SC et al. Cloning by gene amplification of two loci conferring multiple drug resistance in *Saccharomyces*. *Genetics.* 1990; 125: 13–20.
6. Golin J, Ambudkar SV, Gottesman MM et al. Studies with novel Pdr5p substrates demonstrate a strong size dependence for xenobiotic efflux. *J Biol Chem.* 2003; 278: 5963–9.
7. Slayman CL. Electrical properties of *Neurospora crassa*. Respiration and the intracellular potential. *J Gen Physiol.* 1965; 49(1): 93-116.

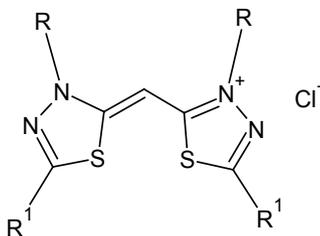
*Работа сделана при поддержке гранта РФФ 14-14-00181*

## НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАДИАЗОЛА, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Кошевенко А.С., Ананьева Е.П., Яковлев И.П., Юсковец В.Н.  
Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия*

В связи с широким распространением микозов, одной из актуальных проблем является поиск и синтез новых биологически активных веществ с фунгицидной активностью. Производные тиадiazола представляют собой соединения, обладающие антибактериальной и противогрибковой активностью [1].

Нами впервые реакцией N<sup>+</sup>-фенилтиобензгидразида с малонилдихлоридом, в соотношении 1: 1, в среде ледяной уксусной кислоты, получен ряд соединений I с общей формулой [2]:



- а – R = Ph; R<sup>1</sup> = Ph (хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифенил)-5-(4-фенил)-1,3,4-тиадiazол-2(3H)-илиден)метил]- 3-(3,5-дифенил)-5-(4-фенил)-1,3,4-тиадiazол-3-ия);
- б – R = 3,5-диFC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; R<sup>1</sup> = 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифторфенил)-5-(4-фторфенил)-1,3,4-тиадiazол-2(3H)-илиден)метил]- 3-(3,5-дифторфенил)-5-(4-фтор-фенил)-1,3,4-тиадiazол-3-ия);
- в – R = 4- FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; R<sup>1</sup> = Ph (хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(4-фторфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-2(3H)-илиден)метил]- 3-(4-фторфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-3-ия);
- г – R = 3,5- диFC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; R<sup>1</sup> = Ph (хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дифторфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-2(3H)-илиден)метил]- 3-(3,5-дифторфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-3-ия);
- д – R = 3,5- диClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>; R<sup>1</sup> = Ph (хлорид 2-[(1Z)-1-(3-(3,5-дихлорфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-2(3H)-илиден)метил]- 3-(3,5-дихлорфенил)-5-фенил-1,3,4-тиадiazол-3-ия).

Выходы соединений составили от 91 – 95%. Контроль за ходом реакции и чистотой полученных продуктов осуществляли с помощью ТСХ на пластинках «Sorbfil». Строение доказано методами ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  и ИК-спектроскопии.

Противогрибковую активность исследовали на следующих видах *Candida*: *C. albicans* АТСС 885-653, *C. utilis* ЛИА-01, *C. tropicalis* шт. РКМ У-0482, *C. mycoderma* ВКМ У-240. Также была изучена активность соединений в отношении мицелиального гриба *Aspergillus niger* АТСС 16404. В качестве препарата сравнения был выбран препарат из группы азолов – флуконазол.

Флуконазол – распространенный синтетический противогрибковый препарат группы триазолов для лечения и профилактики кандидоза и некоторых других микозов.

По данным литературы, активность флуконазола и некоторых его дженериков в отношении *C. albicans* проявлялась при минимальной ингибирующей концентрации в интервале 32–64 мкг/мл [3]. Так как *C. albicans* является основным возбудителем кандидозов, то в первую очередь была исследована активность синтезируемых соединений в отношении данной культуры.

**Результат исследования.** Все исследуемые соединения обладали фунгицидным действием. Исходя из полученных результатов видно, что наибольшей активностью обладает незамещенное соединение Ia, причем оно оказалось эффективнее препарата сравнения. Введение фтора в пара-положение (Iв) не значительно влияло на антимикробную активность. Присоединение заместителей в положение три и пять (Iб, г) оказывало негативное влияние на проявление противогрибковой активности, при этом минимальная ингибирующая концентрация полученных соединений возрастала более чем в 10 раз (табл. 1). Следует отметить, что введение хлора незначительно изменяло антимикробную активность в отношении *C. albicans* по сравнению с исходным соединением.

Следующим этапом исследований было изучение антифунгального действия соединений в отношении других видов данного рода дрожжей. Эти виды не имеют большого значения, как возбудители инфекционных заболеваний, однако иногда встречаются (за исключением *C. mycoderma*) при различных формах кандидозов. Исходное соединение, в данных экспериментах, также оказалось наиболее активным (табл. 1). Влияние структуры исследуемых соединений на антимикробную активность в отношении разных видов дрожжей не подчинялось определенным закономерностям. Например, для *C. utilis* и *C. tropicalis* наименее активными оказались соединения с

Таблица 1. Антимикробная активность в отношении видов *Candida*.

№ соединения	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. mycoderma</i>
	МИК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МИК, мкг/мл	МИК, мкг/мл
Ia	4	8	16	8
Iб	62,5	32	32	8
Iв	8	16	32	62,5
Iг	62,5	62,5	62,5	16
Iд	16	32	32	62,5
флуконазол	16	32	62,5	62,5

шестью атомами фтора, а для *C. mycoderma* – производное с двумя атомами фтора в пара-положении и атомами хлора в положении три, пять. Вероятно, в этом случае существенное значение имеют видовые различия дрожжевых культур. Это подтверждается исследованиями действия флуконазола на различные виды *Candida*, где минимальная ингибирующая концентрация колебалась в пределах от 4 до 128 мкг/мл [4].

Следует отметить, что активность соединений зависит не только от их структуры, но и от вида микроорганизма. Однако показано, что все исследуемые соединения проявляли антифунгальную активность на уровне флуконазола или были активнее.

Было исследовано антифунгальное действие в отношении микциального гриба *Aspergillus niger* некоторых наиболее активных соединений. Это незамещенное соединение (Ia) и производные тиадиазола с хлором (Iд) и фтором в пара-положении (Iв). Минимально ингибирующая концентрация данных производных составляла 16, 250 и 125 мкг/мл соответственно.

В данном случае введение заместителей в исходную молекулу существенно снижало антифунгальный эффект.

Таким образом, были получены соединения, обладающие высокой антифунгальной активностью. Минимально ингибирующая концентрация некоторых соединений превышала активность, действующего на рынке, препарата – флуконазола.

**Список литературы**

1. Cardoso JC. Effects of anew 1,3,4-thiadiazoliummesoionic compound, MI-D, on the acute inflammatory response. Drug Developm Res. 2004; 61(4): 207–17
2. Кузьмич Н.Н. Строение, свойства и биологическая активность продуктов ацилирования гидразидов и тиогидразидов карбоновых кислот оксалил- и малонилдихлоридами. Дис. ...канд. хим. н. 2009.
3. Стуканова Н.П. Дерматовенерология. Учебник. М.: Кнорус». 2013: 102–24.
4. Елинов Н.П. Определение минимальных концентраций для ферментирующих видов дрожжей методом разведения в жидкой питательной среде. 2001; 3(4): 20-9.

## СРАВНЕНИЕ АНТИСЕПТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИРРИГАЦИОННЫХ РАСТВОРОВ НА *CANDIDA ALBICANS*

Братусь А.Е., Кожокар А.С.

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии  
1-й МГМУ, Москва

Кандидоз полости рта, обусловленный не просто наличием грибов рода *Candida*, а их размножением в большом количестве, и/или попаданием более патогенных штаммов гриба. Чаще всего кандидоз возникает при снижении общего и местного иммунитета. Кроме того, *C. albicans* способен формировать биопленки на стенках корневого канала, затрудняя его инструментальную обработку и дезинфекцию, что в дальнейшем приводит к развитию тяжелых одонтогенных воспалительных процессов [1,2].

**Цель исследования** – определить антисептическую эффективность против гриба *C. albicans* распространенных в России растворов, применяемых для ирригации корневых каналов.

**Ход исследования.** Мы провели опрос в социальной сети одного из крупных сообществ практикующих врачей для выявления предпочтений российских врачей-стоматологов. Нас интересовало, какой ирригант популярнее в настоящее время, а как соотносится популярность и действие препарата на условно-патогенный гриб *C. albicans* будет описано ниже. В опросе приняли участие 484 человека, при проведении опроса мы старались максимально избежать вероятность ошибки, так для исключения врачей, не работающих с ирригантами, был дополнительный ответ, выбрав который, врач увидел бы только результат голосования. Результаты опроса были обработаны статистическим методом. Таким образом, выявлено, что

- раствор гипохлорита натрия (NaOCl) 3,25% получил 64% голосов (320 чел.)
- Парсан торговой марки Septodont получил 12,4% голосов (62 чел.)
- Нурослеан торговой марки OGNA получил 0,8% голосов (4 чел.)
- хлорексидин 2% получил 16,8% голосов (84 чел.)
- Гваяфен торговой марки «Омега-Дент» получил 0,8% голосов (4 чел.)
- Камфорфен торговой марки «Омега-Дент» получил 0,2% голосов (1 чел.)

- ЭндоЖи №3 торговой марки «ВладМиВа» получил 1,2% голосов (6 чел.)
- Эдеталь-Эндо торговой марки «Омега-Дент» получил в качестве дезинфектанта 0,6% голосов (3 чел.)

Следующий этап исследования был проведен на *in vitro* в микробиологической лаборатории, для оценки качества дезинфектантов были исследованы их антимикробные эффекты. Объектами исследования явились 8 ирригационных агентов: раствор гипохлорита натрия (NaOCl) 3,25%, Parcan торговой марки Septodont, Нурослеан торговой марки OGNA, хлоргексидин 2% торговой марки TechnoDent, Гваяфен торговой марки «Омега-Дент», Камфорфен торговой марки «Омега-Дент», ЭндоЖи №3 торговой марки «ВладМиВа», а также Эдеталь-Эндо торговой марки «Омега-Дент».

*S. albicans* был высеян *in vitro*, нами были сделаны разведения дезинфектантов (без разведения, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:200, 1:400), которые в последующем инкубировались на питательную среду, обсемененную спорами гриба, инкубация продолжалась в течение 3 дней при температуре 37 °С. Результаты антимикробного эффекта ирригационных растворов, заносились в таблицы, а затем перепроверялись не менее 3 раз.

Выявлено, что на питательной среде, засеянной *S. albicans*, все исследуемые растворы без разведения уничтожили 100% бактерий, за исключением Эдеталь-Эндо торговой марки «Омега-Дент». Изучив литературу, а также проверив препарат Эдеталь-Эндо, мы пришли к выводу, что препараты, содержащие ЭДТА не являются антисептическими, а обладают только расширяющими свойствами. Использование их для ирригации нецелесообразно.

Гипохлорит натрия 3,25% уничтожает грибы, его минимальная подавляющая концентрации (МПК) составляет 1: 32, чуть ниже, чем у большинства выбранных нами препаратов (Parcan, Нурослеан, хлоргексидин 2%, гваяфен, камфорфен имеют МПК 1:64). Немного хуже антисептическая эффективность ЭндоЖи №3, при разведении 1: 8 препарат уничтожил лишь 20% микроорганизмов. Таким образом, все исследуемые образцы сохраняют антисептическую эффективность, даже в минимальной концентрации, что позволяет их использовать в сильно облитерированных каналах (табл.).

+ – нет роста *Candida albicans*, +/- – рост сомнительный (соответствует минимальной подавляющей концентрации вещества),

- – рост *Candida albicans*.

**Выводы.** Все образцы способны губительно воздействовать на грибы рода *Candida*, тем самым мы развеяли существующий миф, о

Воздействие стоматологических ирригационных растворов  
на *Candida albicans*

	нет	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:200	1:400
Parcan	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-
Гипохлорит натрия 3,25%	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-
Нурослеан	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-
Хлоргексидин 2%	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-
Гваяфен	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-
Камфорфен	+	+	+	+	+	+	+/-	-	-	-
ЭндоЖи №3	+	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-
Эдеталь-Эндо	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

том что гипохлорит натрия не способен убить споры условно-патогенного гриба *C. albicans*, обитающего в сложной системе корневых каналов. Можно утверждать, что препараты, содержащие ЭДТА, не являются антисептическими, а обладают только очищающими свойствами.

Полученные данные дают основание говорить о высокой очищающей эффективности препаратов при ирригации корневых каналов, и позволяют рассматривать эти растворы, как потенциальную альтернативу применения самого востребованного в эндодонтической практике гипохлорита натрия. Все исследуемые образцы конкурентоспособны, обладают высокой антисептической активностью, продолжают убивать *C. albicans* даже при низких концентрациях препаратов.

### Список литературы

1. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013; 4(2): 119–28;
2. Ламонт Р. Дж., Лантц М.С., Берне Р.А. Микробиология и иммунология для стоматологов. Изд. «Практич. мед.». 2010.

## ОБУСЛОВЛЕННОЕ ГЛИКОКОНЪЮГАТАМИ УСИЛЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСНЫХ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ-РАСПОЗНАЮЩИХ СИСТЕМ

*Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С.,*

*Алешкин А.В., Алешкин В.А.*

*ФБУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии  
им. Г.Н.Габричевского, Москва*

**Введение.** Известно, что некоторые природные гликоконъюгаты (ГК, в том числе муцины), гликолипопротеины, гликолипиды (в том числе биосурфактанты), полисахариды и другие экзополимерные соединения (ЭПС; в том числе эмульгаторы, пенообразующие и поверхностно-активные вещества); высокомолекулярные, фрагментарные и низкомолекулярные) обладают селективным антимикробным, в том числе противогрибковым действием.

**Цель работы** – суммировать потенциал антимикробного/противогрибкового кофункционирования гликопротеинов (ГК) (природных и синтетических) и ГК-распознающих белковых систем культур пробиотических бактерий по результатам собственных исследований [1–7].

**Результаты и обсуждение.** Мы показали, что «полимерные поливалентные гликоконъюгаты муцинового типа» – распознающие пробиотические белковые системы (ППГКМТРПБС) структурно связаны с природными ГК – биосурфактантами и другими ЭПС в составе культуральных жидкостей пробиотических производственных штаммов бифидобактерий и лактобацилл (и их консорциумов), первоначально выделенных из кишечника здорового человека [6].

Синтетические ГК муцинового типа представляют собой имитаторы полисахаридов и гликоантигенов, растворимые в водных/водно-солевых средах полимерные поливалентные синтетические линейные с биосовместимым кором (полиакриламидом), от которого отходят в виде коротких боковых цепей многократно повторяющиеся моно/ди/олигосахаридные остатки ([www.lectinity.com](http://www.lectinity.com)). Различные типы таких ГК одновременно способны распознавать мозаики компонентов ППГКМТРПБС (наблюдается синергизм в виде усиленной числом компонентов объединенной ГК-распознающей системы), а сами ППГКМТРПБС способны распознавать N-ацетил-D-галактозамин (D-GalNAc- $\alpha/\beta$ -)повторы в синтетических ГК

муцинового типа, в том числе в составе антигенов [7]. Более того, такие ГК (различные варианты их типов) характеризуются различными аффинными участками связывания с множественными биологически и физиологически активными формами биопрепаратов терапевтических ГК-распознающих гликопротеинов (с одновременным экранированием и консервацией активных участков), причем природа таких участков отличается от участков связывания моноклональными антителами на мультифункциональных гликопротеиновых формах белка (имеет место синергизм кофункционирования ГК, ГК-распознающих белков и антител к белку, что расширяет потенциал конструирования направленных сочетаний антимикробных/ противогрибковых эффлекторов).

Пробиотические бактерии человека на своей поверхности экспрессируют способные к десорбции ППГМТРПБС (кислые, катионные и околонефральные; лактобациллярные и бифидобактериальные), имитирующие клеточные пробиотики [4, 5]. ППГМТРПБС функционируют, как

- носители для доставки муцинов – супрессоров грибковых патогенов;
- улавливающие муциновые ГК сорбенты на поверхности предварительно ППГМТРПБС-меченных/ сенсibilизированных микробных мишеней; разрушители клеточной поверхности патогенов и деструкторы их биопленок [2].

Комплексы ППГМТРПБС – ГК функционируют как приводящие к: повышению надежности сорбции на микробных мишенях (путем вовлечения рецепторов и для ППГМТРПБС, и для ГК); усиленному антагонизму против патогенов в борьбе за сорбцию на внутрисполостных слизистых поверхностях (в кишечнике и урогенитальном тракте), а также в связи с вытеснением патогенов из слизистой; синергизму антимикробного действия (как сцепленные партнеры дополняют друг друга антимикробными механизмами [2, 3]); синергизму с антибиотиками/ антимикотиками; повышению пролонгированной дистанционной активности (как у метабобиотиков), проницаемости, в том числе в пористые и межклеточные структуры.

**Заключение.** Результаты указывают на широкие перспективы использования принципов кофункционирования ГК и ППГМТРПБС в качестве инструмента конструирования направленных селективных комбинированных антимикробных/ противогрибковых препаратов пролонгированного действия.

**Список литературы**

1. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. и соавт. Противогрибковый потенциал лектиновых пробиотических и фитопрепаратов: типы, механизмы и факторы действия против патогенных грибов человека. *Практ. фитотер.* 2009; спец. вып.: 17-25.
2. Lakhtin M, Alyoshkin V, Lakhtin V et al. Probiotic lactobacillus and bifidobacterial lectins against *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* clinical strains: new class of pathogen biofilm destructors. *Probiotics Antimicrob Prot.* 2010; 2(3): 186-96.
3. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Алешкин В.А. и др. Фитолектины и пробиотические лектины – синергичные антипатогены. *Практ. фитотер.* 2010; 1: 5-11.
4. Lakhtin M, Lakhtin V, Alyoshkin V, Afanasyev S. Lectins of beneficial microbes: system organization, functioning and functional superfamily. *Beneficial Microbes.* 2011. 2(2): 155-65.
5. Lakhtin M, Lakhtin V, Aleshkin A et al. Lectin systems imitating probiotics: potential for biotechnology and medical microbiology. In: "Probiotics 2012". Ed. E.C. Rigobelo. NY: InTech, 2012: 417-32.
6. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С. и др. Сцепленность лектинов и ЭПС в культурах пробиотических бактерий человека. *Клин. лаб. диагн.* 2014; 9: 82-3.
7. Лахтин В.М., Лахтин М.В., Черепанова Ю.В. и др. Новые распознающие содержащие GalNAc-антигены системы лектинов культуральных жидкостей пробиотических штаммов лактобацилл и бифидобактерий. *Гастроэнтерология в СПб.* 2009; 4: M22.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСОСОЛЬВАТОВ В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Поклонский Д.Л.<sup>1</sup>, Храмов Е.Н.<sup>1</sup>, Пудова О.Б.<sup>1</sup>,  
Плотников А.Д.<sup>2</sup>, Алехова Т.А.<sup>3</sup>, Александрова Е.И.<sup>3</sup>,  
Новожилова Т.Ю.<sup>3</sup>, Загустина Н.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ГНИИ биологического приборостроения ФМБА России

<sup>2</sup>РКК «Энергия» имени С.П. Королева

<sup>3</sup>МГУ имени М.В. Ломоносова

<sup>4</sup>Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН, Москва

В рамках космического эксперимента «Биополимер» осуществлено экспонирование образцов полимерного дезинфицирующего материала в одном из отсеков российского сегмента Международной космической станции (РС МКС) с целью определения его фунгицидной активности в условиях космического полета.

Ранее во ФГУП «ГосНИИБП» был создан пленочный дезинфектант, активно-действующим веществом которого является пероксо-сольват фторида калия (ПФК) – производное пероксида водорода.

Необходимость использования пленочных рецептур обусловлена сложностью применения жидких дезинфицирующих препаратов в условиях невесомости.

Изучены токсикологические характеристики ПФК. Показано, что пероксо-сольват относится к IV классу малоопасных веществ при нанесении на кожу и к III классу умеренно опасных веществ при попадании в желудок согласно классификации ГОСТ 12.1.007-76. Также отмечено, что ингаляционное воздействие в режиме «протираания» ра-бочим растворами ПФК не представляет опасности для здоровья человека, препарат взрыво- и пожаробезопасен. Предельно допустимая концентрация в воздухе рабочей зоны для пероксо-сольвата фторида калия и пероксо-сольвата фторида аммония – 1,4 мг/м<sup>3</sup> (по пероксиду водорода).

Полимерную рецептуру наносили на металлические диски, загрязненные суспензией культуры *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F-4034D. Диски помещали в пластиковые чашки Петри, упаковывали во фторопластовые пакеты, после чего помещали в транспортировочный контейнер.

Научная аппаратура находилась на борту МКС в течение 49 сут, общее время от нанесения пленок на поверхность до обработки

результатов составило 95 сут. Во время пассивного экспонирования научной аппаратуры на борту РС МКС температура находилась в пределах от 22 – 25 °С, после экспонирования научная аппаратура была возвращена на Землю в спускаемом модуле и передана для обработки результатов эксперимента.

После вскрытия транспортировочного контейнера установлено, что все пленки с ПФК находились на поверхности пластин, расслаивания и отставания пленок от поверхностей не наблюдалось. Это позволяет сделать вывод о том, что выбранное техническое решение купирования биоповреждений полимерными пленками реализуемо в условиях невесомости, а нанесенные на поверхность металла пленки выдержали условия старта, посадки и космического полета.

Смывы с контрольных поверхностей были посеяны на поверхность мясо-пептонного агара (МПА) и агара Чапека-Докса, после чего пробы культивировали в течение 21 суток.

Ранее показано, что дезинфектант на основе ПФК обладает выраженной фунгицидной активностью. При исходной концентрации грибов  $5 \dots 8 \cdot 10^6$  КОЕ/мл через три часа после воздействия уровень контаминации снизился до величины  $0,5 \dots 1 \cdot 10^1$  КОЕ/мл, а через 24 часа воздействия жизнеспособных клеток не обнаруживалось.

В результате исследований установлено, что пленочный материал, содержащий пероксид водорода и пленочный материал, содержащий пероксольват фторида калия, полностью подавляют прорастание спор грибов *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F-4034D в условиях невесомости.

Таким образом, полученные данные подтверждают возможность применения рецептур, содержащих пероксид водорода и пероксольват фторида калия, для локальной дезинфекции поверхностей, контаминированных грибами-биодеструкторами, в условиях космического полета.

## ФУНГИСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ХИТОЗАНА С 3-d МЕТАЛЛАМИ

Попова Э.В.<sup>1</sup>, Домнина Н.С.<sup>2</sup>, Власов П.С.<sup>2</sup>, Тюттерев С.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ защиты растений Санкт-Петербург,  
Пушкин,

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет

Известно, что хитозан сам по себе, особенно, низкомолекулярный, обладает определенной биоцидной активностью (антигрибной, антибактериальной, антивирусной), но она недостаточна, и в сравнимых концентрациях полимер значительно менее эффективен, чем фунгициды. Увеличение биологической активности хитозановых препаратов достигается за счет введения в его состав биологически активных веществ, целенаправленно усиливающих его элиситорную или биоцидную активность [1, 2].

Результаты, полученные разными авторами, свидетельствуют, что биологическая активность препаратов на основе хитозана зависит от вида микроорганизма, структуры углеводов, входящих в состав его клеточной клетки, а также от структуры хитозана [3]. Изучению биоцидной активности хитозана посвящено множество работ [4]. Тем не менее механизмы антибактериального и антигрибного действия биополимера на клеточном и на молекулярном уровне раскрыты не полностью. Взаимосвязь между структурой хитозанового полимера и его биологическим эффектом на клетки микроорганизмов остается до конца не выясненной [5].

Ключевым моментом в биологическом действии хитозана являются его степень дезацетилирования (СД) и молекулярная масса (ММ). Полностью ацетилированный (хитин) и полностью дезацетилированный (полиглюкозамин) хитозан биологической активностью не обладает, так как для ее проявления важно определенное соотношение аминных и ацетильных групп. Наибольшую активность имеет хитозан со степенью дезацетилирования от 70 до 90%.

Можно считать установленным, что антигрибная и антимикробная активность хитозана усиливается при увеличении его степени дезацетилирования. Сведения о влиянии молекулярной массы хитозана на его биоцидные свойства носят противоречивый характер [6]. Хитозан проявляет биологическую активность в широком диапазоне молекулярных масс: от олигомеров (ММ 1,2 кДа) до образцов с высокими степенями полимеризации (ММ 300 кДа).

Образцы с ММ до 10 кДа способны проникать внутрь растения и участвовать в метаболизме, в то время как образцы с ММ 100кДа и выше защищают растение извне благодаря пленкообразующей способности. Большинство исследований проведено на высокомолекулярных образцах хитозана с ММ выше 50 кДа. Работы по изучению антигрибных свойств низкомолекулярных форм хитозана практически отсутствуют.

Наличие функциональных групп хитозана позволяет проводить различные модификации органическими соединениями, полимерами или металлами. Например, усилить биологическую активность можно путем включения в состав хитозана металлов, которые, с одной стороны, сами по себе обладают биоцидной активностью и, с другой стороны, могут использоваться растениями в качестве катализаторов биохимических процессов.

**Цель работы** – сравнительное изучение антигрибной активности хитозана с разной молекулярной массой (СД = 85%), а также его омплексов с 3-d-металлами (Cu, Zn, Fe ).

Методом окислительной деструкции исходного высокомолекулярного хитозана (ММ = 150 кДа, степень дезацетилирования 85%) были получены образцы с ММ 3, 5, 10 и 50 кДа. На их основе синтезированы комплексы хитозана с медью, цинком, железом, формирование которых подтверждено методом ИК- и УФ-спектроскопии. Определение содержания металлов в комплексах проведено фотометрическим методом [7].

Изучение антигрибной активности препаратов проводили методом агаровых блоков [8]. В качестве тестовых грибов использовали: гриб *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Schlecht.) Snyd. et Hans, – возбудитель фузариозного увядания томата, и гриб *Sclerotinia sclerotiorum*, вызывающий белую гниль томата. Тест-культуры получены из коллекций типовых культур ВНИИСХМ и лаборатории микробиометода ВИЗР. Оценку биоцидной активности исследуемых хитозановых препаратов проводили в соответствии с Методическими указаниями по государственным испытаниям фунгицидов, антибиотиков и протравителей семян сельскохозяйственных культур [9].

Из табл. 1 видно, что наибольшее содержание металла наблюдается в комплексах хитозана с медью, а наименьшее – с железом. Это объясняется тем, что медь более склонна к связыванию с аминогруппами хитозана по сравнению с железом и цинком.

Результаты влияния молекулярной массы хитозана на его фунгистатическую активность представлены в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика комплексов хитозана с металлами.

ММ хитозана, кДа	Cu <sup>2+</sup> масс. %	Fe <sup>2+</sup> масс. %	Zn <sup>2+</sup> масс. %
3	11,0	2,1	4,2
5	11,0	2,0	5,8
10	9,0	1,9	6,4
50	9,8	1,9	3,3
150	9,0	1,8	2,2

Таблица 2. Фунгистатическая активность хитозана in vitro.

ММ хитозана, кДа	Ингибирование роста мицелия грибов, % к контролю; 5 и 10-е сутки культивирования		
	<i>F. oxysporum</i> 5-е сутки	<i>F. oxysporum</i> 10-е сутки	<i>S. sclerotiorum</i> 5-е сутки
3	61,1	44,4	77,7
5	79,6	78,0	82,2
10	83,1	77,0	83,3
50	82,3	80,0	82,2
150	79,1	72,2	66,6

Экспериментально показано, что все хитозановые образцы обладают высокой антигрибной активностью, сдерживая рост мицелия грибов на 5-е сутки культивирования на 61,1 – 83,3 %. При изучении антигрибной активности хитозановых образцов с разным молекулярным весом установлено, что низкомолекулярный хитозан эффективнее подавлял рост мицелия гриба *S. sclerotiorum* по сравнению с *F. oxysporum*. Увеличение молекулярной массы с 5 до 150 кДа усиливало антигрибную активность хитозана по отношению к грибу *F. oxysporum*.

В отношении гриба *S. sclerotiorum* хитозановые образцы с ММ от 3-х до 50 кДа проявляли высокую биоцидную активность, ингибируя рост мицелия на 77,7 – 82,2%. Хитозан с ММ 150 кДа оказался менее активен. Таким образом, гриб *S. sclerotiorum* оказался более чувствителен к низкомолекулярному хитозану (3 кДа) и менее чувствителен – к высокомолекулярному (150 кДа).

Таблица 3. Фунгистатическая активность комплексов хитозана с металлами (in vitro)

Вариант комплекса	Ингибирование роста мицелия грибов, % к контролю; 5 и 10-е сутки культивирования		
	<i>F. oxysporum</i> 5-е сутки	<i>F. oxysporum</i> 10-е сутки	<i>S. sclerotiorum</i> 5-е сутки
ММ хитозана+ металл			
3 кДа + Cu	81,0	75,0	81,1
5 кДа + Cu	85,7	84,0	83,3
10 кДа + Cu	87,5	75,0	86,6
50 кДа + Cu	87,5	85,0	83,5
150 кДа + Cu	85,0	82,0	78,9
3 кДа + Zn	78,9	74,2	
5 кДа + Zn	87,8	78,9	
10 кДа + Zn	83,5	78,2	
50 кДа + Zn	82,7	71,5	
150 кДа + Zn	81,8	70,5	
3 кДа + Fe	51,8	36,6	
5 кДа + Fe	55,5	35,6	
10 кДа + Fe	54,7	35,5	
50 кДа + Fe	55,0	66,7	
150 кДа + Fe	64,4	54,5	

Включение в хитозан металлов (меди и цинка) способствует повышению антигрибной активности хитозановых препаратов. Так, включение меди значительно (с 61,1 до 81,0 %) повышает антигрибную активность образцов хитозана с ММ 3 кДа по отношению к грибу *F. oxysporum*. В отличие от меди и цинка, железо не только не увеличивает антигрибную активность хитозана, но и ведет к снижению его биоцидной активности. Низкая биоцидная активность комплексов хитозана с железом объясняется использованием этих катионов самим грибом для репродуктивного процесса. Кроме того, в отличие от меди и цинка железо не является токсичным элементом для гриба.

В наших исследованиях по оценке антигрибной активности образцов хитозана, различающихся по молекулярной массе (при СД = 85%) выявлены различия в чувствительности грибов к низ-

комолекулярному хитозану. Показано, что низкомолекулярный хитозан (3 кДа) проявляет более высокую биоцидную активность по отношению к грибу *S. sclerotiorum* по сравнению с *F. oxysporum*.

В результате хелатирования с ионами металлов положительный заряд хитозана увеличивается, что повышает адсорбционную способность поликаатиона и способствует более прочному связыванию хитозановой молекулы с поверхностью клеточных структур грибов, приводит к нарушению их нормального обмена веществ. Таким образом, полученные комплексы хитозана с металлами (медью и цинком) эффективнее подавляют рост мицелия изученных тестовых грибов.

### Список литературы

1. Тютюрев С.Л. Научные основы индуцированной болезнестойчивости. СПб.: ВИЗР; 2002: 328 с.
2. Badawy MEI, Rabea EI. A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. Int J Carboh Chem. 2011; 2011: 29.
3. Ильина А.В., Варламов В. П. Влияние степени ацетилирования на ферментативный гидролиз хитозана препаратом целловиридин Г20х. Прикл. биохим.микробиол. 2003; 39(3): 273.
4. El Hardrami A, Adam RL, El Hardrami I, Daayf F. Chitosan in plant protection. Marine Drugs. 2010; 8(4): 968-87.
5. Куликов С.Н., Хайрулин Р.З. Антибактериальная и антимикотическая активность хитозана: механизм действия и роль структуры. Хитозан. М.: «Центр Биоинженерия» РАН, 2013: 363-407.
6. Куликов С.Н., Чирков С.Н., Ильина А.В. и др. Влияние молекулярной массы хитозана на его противовирусную активность в растениях. Прикл. биохим. микробиол. 2006; 42(2): 200
7. Власов П.С., Киселев А.А., Домнина Н.С. и др. Синтез и биологическая активность комплексов хитозана с металлами. Журн. прикл. хим. 2009; 82(9): 1571.
8. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка. 1982: 275 с.
9. Методические указания по государственным испытаниям фунгицидов, антибиотиков и протравителей семян сельскохозяйственных культур. М. 1985: 130 с.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИГРИБКОВЫХ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ И БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ

*Самедова А.А.*

*Институт ботаники НАН Азербайджана, Баку*

Полиеновые антибиотики (ПА) – представляют собой большой класс лекарственных препаратов, проявляющих антигрибковую активность [1]. Благодаря этому свойству ПА сегодня остаются самыми эффективными соединениями в борьбе с грибковой инфекцией и широко используются в практической медицине при лечении поверхностных микозов, превосходя по своей эффективности действия все другие химиотерапевтические средства. Широкое применение в медицине нашли нистатин, амфотерицин В, леворин, кандицидин, трихомицин, пимарицин [2].

Использование ПА в медицинской практике базируется на детальном изучении молекулярно-биологических механизмов их взаимодействия с клеткой. ПА отличаются высокой мембранной активностью. В основе механизма действия ПА лежит формирование в мембранах в комплексе со стеринами структурных каналов молекулярных размеров, увеличивающих проницаемость мембран для ионов и органических соединений [3].

Установлено, что ПА взаимодействуют со стеринами, связанными с цитоплазматическими мембранами клеток, образуя в них поры (каналы), через которые клетки начинают терять жизненно важные метаболиты, что приводит к лизису клеток. Более того, ПА взаимодействуют со свободными стеринами, находящимися в крови, биологических жидкостях и тканях, образуя гидрофильные высокомолекулярные комплексы, быстро выводящие холестерин из организма.

Приходится, однако, отметить, что токсичность ПА для организма человека резко ограничивает их применение и требует создания новых лекарственных форм. Принято считать, что механизм токсичности ПА состоит в связывании их с липопротеидами клеточных мембран. Предполагается, что основой фунгицидного действия ПА и причиной их специфической токсичности в отношении грибов является взаимодействие этих соединений со стеринами, локали-

зованными в клеточной мембране. Стерины являются основными рецепторами определяющие чувствительность ПА к мембранам. Из стеринов наиболее эффективным для ПА является эргостерин, входящий в состав клеток грибов [4, 5].

В настоящее время известны два пути синтеза новых лекарственных форм ПА. Первый путь – химическая трансформация полиеновой молекулы и второй путь – синтез молекул с помощью генно-инженерных работ [6]. Остановимся на первом пути синтеза новых антибиотиков. Исследуя свойства одиночных ионных каналов на бислойных мембранах в присутствии ПА, удастся внести вклад в установление связи между структурой и функцией молекул полиенов и тем самым конкретизировать пути для теоретических подходов к целенаправленному синтезу новых производных с заданными свойствами.

Для многих ПА установлена химическая структура, разработаны методы направленной химической модификации молекул и синтезирован широкий спектр их производных [3]. ПА представляют интерес не только для исследования молекулярного механизма ионной избирательности клеточных мембран, но и для решения целого ряда прикладных задач. Поэтому весьма актуальной задачей является синтез и отбор высокоэффективных антибиотиков, нетоксичных для человеческого организма, но обладающих избирательным действием на клетки грибов.

Эту проблему можно решить путем изучения связи структуры и функции ПА на бислойных липидных мембранах (БЛМ), что будет способствовать созданию теоретической основы для получения новых соединений с определенными терапевтическими свойствами. Как показывают исследования, модификация молекулы ПА в области полярных групп может быть одним из путей решения этой задачи. Так, метиловый эфир амфотерицина В и метиловый эфир нистатина примерно в 250 раз менее токсичны, чем исходные антибиотики. Токсичность метамфоцина также весьма мала. Очевидно, эффект антибиотика на клетку тем больше, чем выше концентрация антибиотика и, тем самым, уровень индуцированной им проводимости мембраны.

Но, как следует из экспериментальных данных, эта величина не является единственной характеристикой биологической эффективности ПА. В самом деле, проводимость, индуцированная в БЛМ метамфоцином, сравнима с проводимостью, индуцированной исходным амфотерицином В. Токсичность же последнего велика по сравнению с метамфоцином. Установлено, что чувствительность

клеток к ПА зависит от липидного состава мембран, химического строения и концентрации действующего антибиотика. Степень повреждения клеток зависит не только от уровня индуцированной проводимости, но и от времени нахождения антибиотика в мембране. Это время определяется в экспериментах с БЛМ как постоянная времени релаксации проводимости мембраны при удалении (отмывке) антибиотика из примембранного раствора. При прочих равных условиях эффект ПА тем сильнее, чем дольше он связан с клеточной мембраной. В условиях организма, который является проточной, открытой системой, происходит постепенная отмывка антибиотика из клеток, что приводит к конечному времени существования его в мембране.

Чем быстрее идет отмывка, тем менее токсичен антибиотик. Это предположение согласуется с более быстрой релаксацией проводимости БЛМ при отмывке метамфоцина. Определены критерии биологической эффективности антибиотика, зависящие как от индуцированной проводимости, так и от постоянной времени отмывки антибиотика. Под действием ПА чувствительные клетки теряют компоненты цитоплазмы, в том числе ионы. Рассмотрим с этой точки зрения результаты исследования алкильных производных амфотерицина В при действии их на проводимость мембран. Индуцированная проницаемость мембраны меняется в диапазоне нескольких порядков при изменении концентрации антибиотика в пределах одного порядка. Уменьшение проводимости мембраны при отмывке антибиотика происходит во времени с определенной постоянной.

Таким образом, биологический эффект ПА может в широких пределах регулироваться его концентрацией. Эффективность антибиотика и постоянная времени релаксации проводимости мембран при отмывке антибиотика сильно зависят от стеринного состава мембраны. Поэтому при прочих равных условиях эффект ПА на клетки с разным стеринным составом мембраны меняется в широких пределах. Существует оптимальная концентрация ПА (ее можно оценить в опытах с БЛМ), при которой должен наблюдаться наилучший терапевтический эффект. Значительное уменьшение постоянной времени релаксации, а значит, и токсичности имеет место в ряду алкильных производных амфотерицина В: от исходного амфотерицина В до бутамфоцина с длинной алкильной цепью. Исследованные производные быстро отмываются из холестеринсодержащих мембран, но медленно отмываются из эргостеринсодержащих мембран. Учитывая, что холестерин является основным

стериновым компонентом мембран животных клеток, а эргостерин – клеток грибов, в частности патогенных, можно сделать вывод, что исследованные антибиотики слаботоксичны для человека, но токсичны для грибов, а потому могут быть использованы в медицине. Таким образом, исследуя на БЛМ антибиотики различной структуры, можно оценить их токсичность для клеток данного стеринового состава [1]. Из вышеизложенного следует, что изучение взаимодействия ПА со стеринами на молекулярном уровне открывает путь для выработки научно-обоснованной рекомендации для синтеза новых препаратов, обладающих высокой эффективностью при лечении грибковых инфекций.

### Список литературы

1. Самедова А.А. Противогрибковые полиеновые антибиотики и их активность в клеточных и липидных мембранах. Пробл. мед. микол. 2010; 12: 43-8.
2. Ветлугина Л.А., Никитина Е.Т. Противогрибковые полиеновые антибиотики. Алма-Ата: Изд. “Наука” Каз. ССР. 1980: 248 с.
3. Касумов Х.М. Структура и мембранная функция полиеновых макролидных антибиотиков. М.: «Наука», 2009: 512 с.
4. Récamier KS, Hernández-Gómez A, González-Damián J, Ortega-Blake I. Effect of membrane structure on the action of polyenes: I. Nystatin action in cholesterol- and ergosterol-containing membranes J Membr Biol. 2010; 237(1): 31-40.
5. Gray KC, Palacios DS, Dailey I et al. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(7): 2234-9.
6. Brautaset T, Sletta H, Nedal A et al. Improved antifungal polyene macrolides via engineering of the nystatin biosynthetic genes in *Streptomyces noursei*. Chem Biol. 2008; 15(11): 1198-206.

## ИЗУЧЕНИЕ ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO

Шилова И.Б.<sup>1</sup>, Гуськова Т.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Первый московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова;

<sup>2</sup>Научный центр контроля качества НП СЗ НЦКК, Москва

Цель исследования – выявление фунгицидных концентраций производного тиазолидин-2,4-диона на жидкой и плотной питательных средах и влияния на ультраструктуру клеток патогенного гриба.

**Методы исследования.** Исследования на жидкой питательной среде проводили в отношении лабораторных и госпитальных штаммов дерматофитов: *Microsporum canis* 3/84, 50, 53, 4111, 4304; *T. gyrseum* 5/85, 2/92. Методом двукратных серийных разведений в питательной среде – бульон Сабуро. Начальная концентрация исследуемого вещества в первом разведении составляла 500,0 мкг/мл, в последующих – 250,0; 125,0; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8; 3,9; 1,95 мкг/мл.

В пробирки с разведениями вещества вносили инокулят патогенных грибов, приготовленный из бульонных культур по оптическому стандарту мутности в физиологическом растворе. Микробная нагрузка составляла ( $2 \cdot 10^6$  КОЕ/мл). Установление фунгицидных концентраций проводилось методом высева из бульона на чашки с агаром Сабуро. Пересев производился из пробирок, в которых не обнаружено роста патогенных грибов, после выдерживания их при температуре 37 °С в течение 10-ти сут.

Исследования на плотной питательной среде проводили в отношении лабораторных и госпитальных штаммов дерматофитов: *M. canis* 3/84, 50, 53, 4111, 4304; *Trichophyton mentagrophytes* (var. *Intradigitalis*) 317/26, 6/85, 7/85, 8/85, 1147/85, 2184, 1239/85; *Tr. rubrum*, в качестве питательной среды использовали агар Сабуро. Поверхность плотной питательной среды засеивали тест-культурой госпитального штамма гриба, приготовленной из бульонных культур по оптическому стандарту мутности. Микробная нагрузка составляла  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл. Исследуемое вещество с концентрациями от 1,0 мкг/мл до 300,0 мкг/мл разводили в диметилсульфоксиде (ДМСО) и вносили в лунки сделанные в агаре в количестве 0,2 мл, инкубировали в термостате при 37 °С – 6 сут.

Результаты фунгицидного действия учитывали визуально по диаметру зоны задержки роста гриба вокруг лунки в миллиме-

трах. Метод электронной микроскопии применялся при изучении влияния различных концентраций тиазолидин-2,4-диона (2,0; 3,9; 7,8; 15,6 мкг/мл при экспозиции 3; 6; 24 и 48 ч) на ультраструктуры клеток дрожжеподобных грибов рода *Candida albicans* после непосредственного контакта с клетками патогенного гриба в жидкой питательной среде – бульон Сабуро.

**Результаты:** фунгицидное действие производного тиазолидин-2,4-диона на жидкой питательной среде выявлено в отношении всех испытуемых штаммов дерматофитов. В зависимости от штамма фунгицидная концентрация производного тиазолидин-2,4-диона составила от 7,8 до 31,2 мкг/мл (табл. 1).

Дерматофиты	Штамм	Минимальная подавляющая концентрация, мкг/мл	Фунгицидная концентрация, мкг/мл
<i>Microsporum canis</i>	3/84	3,9	15,6
<i>Microsporum canis</i>	50	7,8	31,2
<i>Microsporum canis</i>	53	3,9	15,6
<i>Microsporum canis</i>	4111	3,9	7,8
<i>Microsporum canis</i>	4304	7,8	7,8
<i>Trichophyton gyrseum</i>	5/85	7,8	31,2
<i>Trichophyton gyrseum</i>	2/92	3,9	15,6

На плотной питательной среде фунгицидное действие проявлялось в концентрациях от 10,0 до 31,2 мкг/мл, также в зависимости от штамма (табл. 2).

Дерматофиты	Число штаммов	Минимальная подавляющая концентрация, мкг/мл	Фунгицидная концентрация, мкг/мл
<i>Microsporum canis</i>	5	3,9- 7,8	10,0-15,6
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	7	3,9-7,8	15,6
<i>Trichophyton rubrum</i>	1	7,8	31,2

При изучении влияния производного тиазолидин-2,4-диона на ультраструктуры клеток *Candida albicans* методом электронной микроскопии\* выявлено, что во всех исследованных концентрациях происходят изменения структуры клеток гриба. Вначале изменения появлялись в клеточной стенке, компоненты которой истончались и лизировались с образованием сквозных пор и разрывов. Глубина и протяжённость повреждений зависела от концентрации производного тиазолидин-2,4-диона и времени экспозиции. При воздействии концентраций 7,8 и 15,6 мкг/мл у большинства клеток стенка почти полностью лизировалась. Лизис клеточной стенки вызывал нарушение ее проницаемости и жесткости, в связи с этим, клетки приобретали неправильную угловатую форму. Наряду с изменениями в клеточной стенке определялись нарушения в структуре ядра, которые характеризовались фрагментарным распадом.

Выявлено, что количество измененных клеток напрямую зависело от концентрации производного тиазолидин-2,4-диона и времени экспозиции. При воздействии концентраций 3,9 и 7,8 мкг/мл в течение 48 ч отмечено изменение 46,4 – 62,3% клеток, а при воздействии концентрации 15,6 мкг/мл в тот же промежуток времени 81% по отношению к 100 исследуемым клеткам. В большинстве случаев эти изменения необратимы.

**Выводы.** Установленные фунгицидные концентрации производного тиазолидин-2,4-диона в 2–4 раза превышают минимальные подавляющие концентрации и не зависят от типа питательной среды. Выявленное методом электронной микроскопии влияние производного тиазолидин-2,4-диона на структуры клеток гриба, можно расценивать как механизм, обеспечивающий фунгицидное действие.

*Примечание.* \*Исследования проведены совместно с к.б.н. Л.Ф. Стебаевой.

## АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛАЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОСПИРТОВ

Суворова З.С.<sup>1</sup>, Врынчану Н.А.<sup>1</sup>, Короткий Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт органической химии НАНУ, Киев

Одной из актуальных задач медицины является профилактика и лечение заболеваний, обусловленных микроорганизмами. Несмотря на большой выбор препаратов антимикробного действия, заболеваемость вызванная бактериями и грибами не снижается. По данным ВООЗ смертность от болезней, обусловленных микроорганизмами, занимает 2-е место в мире и составляет более 1 млн случаев, в общем 24,7% людей умирают от инфекционных заболеваний (Харитонюк Р.О., 2013). Одной из основных причин недостаточной эффективности антимикробных препаратов – формирование резистентности у микроорганизмов.

Возникновению и распространению резистентных штаммов грибов способствует нерациональное использование антибиотиков, особенно широкого спектра действия. Микозы часто обнаруживаются у лиц с трансплантацией органов, у пациентов онкологического профиля, ВИЧ-инфицированных, больных туберкулезом, сахарным диабетом и т.д. Увеличение резистентности к антифунгальным препаратам обуславливает сложность терапии микозов и диктует необходимость внедрения в клиническую практику новых, более эффективных антигрибковых средств, особенно среди новых химических классов. Так, внимание заслуживают арилалифатические аминокислоты, обладающие выраженным антигрибковым и антибактериальным действием.

**Цель работы** – изучить антифунгальную активность новых производных арилалифатических аминокислот КВМ-194 и КВМ-204.

**Материалы и методы.** Антифунгальные свойства соединений КВМ-194 и КВМ-204 исследовали методом микроразведений в жидкой питательной среде Сабуро с установлением минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Эксперименты были проведены в отношении дрожжеподобных (*Candida albicans* NCTC 885/653), филаментирующих грибов (*Aspergillus niger*) и дерматомицетов (*Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum*). Плотность инокулята составляла 105 конидий/мл питательной среды. Исследуемый материал инкубировали в термостате на протяжении 24–48 ч при

30 – 32 °С (для дрожжеподобных и филаментирующих грибов) и 7 дней при 28 °С (для дерматомицетов). Концентрации изучаемых соединений составляли 50,0 мкг/мл – 0,2 мкг/мл.

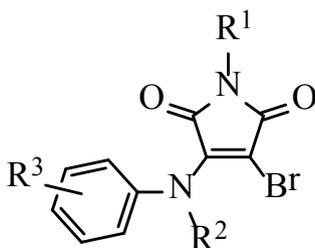
**Результаты.** Экспериментально установлено наличие антифунгальной активности у впервые синтезированных производных арилалифатических аминок спиртов в отношении грибов разных таксономических групп. Антифунгальная активность соединений КВМ-194 и КВМ-204 в отношении *S. albicans* составляет 1,0 мкг/мл и 0,3 мкг/мл соответственно. В отношении *A. niger* соединения не проявили выраженное ингибирующее действие, МИК – 50,0 мкг/мл. МИК соединений КВМ-194 и КВМ-204 в отношении *Tr. mentagrophytes* var. *gypseum* составляет 12,5 мкг/мл.

**Выводы.** Производные арилалифатических аминок спиртов КВМ-194 и КВМ-204 проявляют более выраженный антифунгальный эффект в отношении *S. albicans* и по степени выраженности не уступают флуконазолу (МИК  $\leq$  2,0 мкг/мл) (EUCAST. v. 7.0, 2014). Полученные данные свидетельствуют о наличии у производных алкоксиаминопропанола антифунгальных свойств и перспективности дальнейшего поиска активных соединений среди этой группы химических веществ.

## НОВЫЙ КЛАСС ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ 3-(N-АМИНОАРИЛ) МАЛЕИМИДА.

Тренин А.С., Бычкова О.П., Симонов А.Ю., Лакатош С.А.  
НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе, Москва

В ФГБНУ “НИИНА” путем полного химического синтеза получено свыше 30 новых химических соединений – производных 3-(N-аминоарил)малеимида (или 3-(индол-1-ил)-малеимида) с общей структурой:



Изучение биологических свойств указанных производных позволило выявить среди них соединения, обладающие выраженной активностью в отношении различных микроорганизмов, главным образом, в отношении грибов и грамположительных бактерий. При определении методом диффузии в агар минимальная подавляющая концентрация (МПК) наиболее активных соединений составила в отношении грибной тест-культуры *Aspergillus niger* ATCC 16404 – 10–12 мкМ, дрожжей *Candida albicans* ATCC 14053 – 20 мкМ. МПК в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 21027 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633 составила 8–12 мкМ. Вместе с тем в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* ATCC 25922 все испытанные соединения были неактивны (МПК > 300 мкМ), что позволяет говорить о специфичности их анти-микробного действия.

Высокая активность отдельных производных 3-(N-аминоарил)малеимида в отношении грибов *A. niger* свидетельствует о потенциальных возможностях этой группы соединений и перспективности разработки на их основе новых эффективных антифунгальных лекарственных препаратов.

## НОВЫЕ ГИБРИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ НА ОСНОВЕ БЕНЗОКСАБОРОЛОВ И АМФОТЕРИЦИНА В, ОБЛАДАЮЩИЕ ВЫСОКОЙ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Тренин А.С., Тевяшова А.Н., Олсуфьева Е.Н.

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

Бензоксаборолы – химические соединения, содержащие в своем цикле одновременно атомы кислорода и бора, занимающего в периодической системе элементов пограничное положение между металлами и неметаллами, представляют в последнее время повышенный интерес в связи с наличием у них выраженной биологической активности. Отдельные представители этой группы соединений обладают антибактериальным и антифунгальным действием [1].

Макроциклический полиеновый антибиотик амфотерицин В на протяжении многих лет с успехом используется в медицине для лечения различных инфекций, вызываемых патогенными грибами. Вместе с тем применение этого антибиотика ограничивает его высокая токсичность. Многочисленные попытки создания менее токсичных препаратов, главным образом, путем проведения химической модификации амфотерицина В и других антибиотиков полиенов, пока не привели к желаемому результату [2]. В целом, антифунгальных антибиотиков немного и они, как правило, токсичны.

Эффективным способом создания новых препаратов может стать разработка гибридных антибиотиков, совмещающих в себе позитивные свойства составляющих их соединений [3]. В нашей лаборатории разработаны методы введения бензоксаборольных остатков в молекулу антибиотика амфотерицина В [4]. Модификацию амфотерицина В с помощью бензоксаборолов проводили по одному из сайтов модификации полиенового антибиотика – либо по карбоксильной группе его макролактонового кольца в положении С16, либо по аминогруппе аминасахара. Получена серия гибридных соединений – моно- и димодифицированных производных амфотерицина В. Для синтеза димодифицированных производных 2-й сайт модификации был использован для реакции с соединениями неборольной природы (рис. 1).

Изучение биологической активности полученных соединений, проведенное в соответствии с рекомендациями М27-А и М38-А [5, 6], выявило у большинства гибридов высокую антифунгальную активность *in vitro* в отношении дрожжевых культур *S. albicans* АТСС

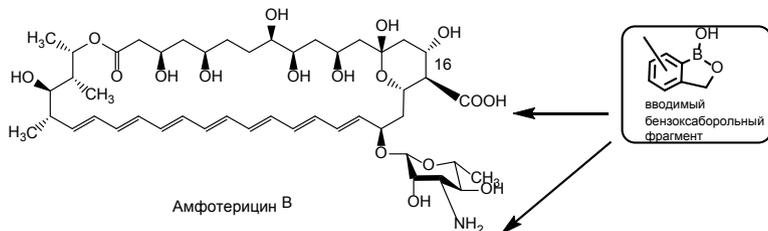


Рис.1. Общая схема структурных модификаций.

14053, *Cr. humicolus* ATCC 9949, а также мицелиальных грибов *A. niger* ATCC 16404 и *F. oxysporum* VKM F-140. Наибольшую активность проявили димодифицированные борольные производные, для модификации которых по карбоксильной группе C16 был использован диметиламиноэтиламид (гибриды ДМАЭ). По отдельным показателям, в частности, по активности в отношении *F. oxysporum*, такие гибриды превосходили исходный антибиотик амфотерицин В.

Полученные гибридные соединения перспективны для дальнейшего изучения и разработки новых антифунгальных антибиотиков.

### Список литературы

1. Ciani L, Ristori S. Boron as platform for new drug design. *Expert Opin Drug Discovery*. 2012; 7: 1017-27.
2. Solovieva SE, Olsufyeva EN, Preobrazhenskaya MN. Chemical modification of antifungal polyene macrolide antibiotics. *Russ Chem Rev*. 2011; 80(2): 103-26.
3. Tevyashova AN, Olsufyeva EN, Preobrazhenskaya MN. Design of dual action antibiotics as an approach to search for new promising drugs. *Russ Chem Rev*. 2015; 84(1): 61-97.
4. Printsevskaya SS, Tevyashova AN, Olsufyeva EN et al. Benzoxaborol-containing derivatives of amphotericin B. III International Conference on Antimicrobial Research – ICAR 2014. Madrid (Spain), 1–3 Oct. 2014: 83.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. Document M27-A. CLSI, Wayne, PA.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. Document M38-A. CLSI, Wayne, PA.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-03-00643А

## АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕБУКОНАЗОЛА И АЛКИЛБЕНЗОЛСУЛЬФОНАТА ТЕБУКОНАЗОЛА В ОТНОШЕНИИ АНТРОПОЗОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Валитов Р.Б., Медведев Ю.А., Колбин А.М.

НИТИ гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ, Уфа

Тебуконазол – препарат из группы триазолов (ТБ) – активен в отношении значительного числа почвообитающих сапрофитических и фитопатогенных грибов [1, 2]. Однако возможности применения ТБ ограничены из-за плохой растворимости препарата в воде. Известно, что поверхностно-активные вещества (ПАВ) обладают ограниченным антифунгальным действием, но в виде комплексов обеспечивают хорошую диспергируемость своих соединений. В настоящее время синтезирован препарат алкилбензолсульфонат тебуконазола (АТБ), сочетающий свойства ТБ и ПАВ.

Чувствительность к антифунгальному действию производных препарата ТБ и АТБ проверялась путем учета полной задержки роста тест-культур грибов на плотной среде Сабуро [4] в отношении фитопатогенных культур *Alternaria alternata* и *Fusarium graminearum*, которые могут вызывать у животных и людей пищевые отравления –микотоксикозы, и грибов возбудителей «оппортунистических» микозов – *Candida albicans*, *Penicillium notatum*, и *Aspergillus ninger*, и дерматофитий – *Tr. mentagrophytes* var. *Granulosum*.

Установлено, что ТБ в концентрациях 18–32 мг/мл активны в отношении всех исследованных антропозоопатогенных грибов. Экспериментальные образцы АТБ превосходят коммерческий препарат ТБК по фунгицидной активности в 1,17 – 1,85 раз в отношении различающихся как фитопатогенных, так и антропозоо-патогенных грибов. Таким образом, можно предполагать, что включение в состав молекулы системного фитонцида ТБК ПАВ-компонента алкилбензолсульфоната обеспечивает более высокую биодоступность фунгицида в виде АТБ в клетки как фитопатогенных, так и антропо- и антропозоопатогенных микроскопических грибов.

### Список литературы

1. Пилугин В.С. Азотсодержащие гетероциклические соединения. Синтез и биологическая активность производных 2-аминобензидазола и 1,3,5-сим-триазины. Уфа: «Гилем». 2008: 372 с.

2. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М.: Химия, 1987: 559, 565.
3. Сбойчаков В.Б. Медицинская микология. Пособие для врачей. ГОЭТАР-медиа. М. 2008: 208 с.
4. Молочков В.А., Кириченко И.М., Арзуманян В.Г., Кривошеин Ю. С. Фунгицидное действие Мирамистина и его использование в лечении грибковых поражений кожи. Усп. мед. микол. 2004; 4: 302-4.

## **Глава 9**

---

# **Грибы – источники новых лекарственных средств**

## **Chapter 9**

---

# **Developing new medicines from fungi**

## АНТИКАНЦЕРОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ БАРВИНКА

Абдульмянова Л.И., Томашко Н.Н., Рузиева Д.М.,  
Гулямова Т.Г., Азимова Ш.С.

Институт микробиологии АН РУз, Ташкент, Узбекистан  
Институт химии растительных веществ АН РУз, Ташкент,  
Узбекистан

В результате исследований методом МТТ-тестирования цитотоксических свойств экстрактов эндофитных грибов, выделенных из барвинка прямого (*Vinca erecta*) и барвинка малого (*Vinca minor*), произрастающих на территории Узбекистана, обнаружено, что 45% из исследованных экстрактов эндофитных грибов в низких концентрациях 1–10 мкг/мл обладают высокой цитотоксической активностью. Так, активность раковых клеток молочных желез (HBL-100) ингибируют 5 экстрактов эндофитных грибов барвинка: *Alternaria* sp. – VE98L, *Penicillium* sp. – VE93R, *Aspergillus terreus* – VE90R, *Alternaria* sp. – VM85L и *Penicillium* sp. – VM86S. При этом высокую избирательную цитотоксическую активность на уровне противоопухолевого препарата проявил экстракт *Alternaria* sp. – VE98L, так как исключительно в большей степени подавлял рост клеток рака молочных желез (HBL-100), и в 2 раза меньше ингибировал нормальные клетки гепатоцитов, чем противоопухолевый препарат «Cisplatin».

Активность раковых клеток гортани (HEp-2) ингибировали 3 экстракта: *Penicillium* sp. – VE93R, *Aspergillus terreus* – VE90R и *Penicillium* sp. – VM86S; активность карциномы шейки матки (HeLa) – только 1 экстракт *Penicillium* sp. – VE93R. При этом ингибирующая активность на уровне противоопухолевого препарата на всех представленных линиях раковых клеток обнаружена у *Penicillium* sp. – VE93R, более чем в 2,5 раза менее токсичного для культуры гепатоцитов, чем Цисплатин.

Полученные данные свидетельствуют, что в барвинке, произрастающем на территории Узбекистана, обитают эндофитные грибы, продуцирующие винка-алкалоиды с высокой цитотоксической активностью, что предполагает перспективность их исследования как новых источников противораковых препаратов.

## ИНДУКЦИЯ СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ СИНТЕТИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ ЛИНЕЙНОГО (1-3)-БЕТА-ГЛЮКАНА В ОПЫТАХ *IN VITRO*

Ахапкина И.Г., Антропова А.Б., Ахматов Э.А.,  
Желтикова Т.М.

НИИ вакцин и сывороток имени И.И.Мечникова РАМН, Москва

В настоящее время значительное внимание уделяется иммуномодулирующей активности грибов. Известно, что бета-глюканы грибов способны провоцировать неспецифические воспалительные реакции. Полагают, что (1-3)-бета-глюканы активируют макрофаги [1], нейтрофилы [2], эозинофилы, систему комплемента, запуская реакции как врожденного, так и адаптивного иммунитета [3]. Механизмы действия  $\beta$ -глюканов зависят от их структурных особенностей, сродства к определенным рецепторам на клетках иммунной системы [4]. Для изучения биологической активности линейных участков бета-глюканов впервые был использован синтетический олигосахарид, состоящий из девяти остатков глюкозы – нона- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-глюкозид (Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН).

В московском регионе среди лиц с моно- и полисенсibilизацией к грибам ведущее положение занимает гиперчувствительность к *Alternaria alternata* [5]. При культивировании в жидкой среде в культуральную жидкость выделяются как белковые соединения, так и экзополисахариды. Представлялось интересным сравнить спектр цитокинов, индуцированных  $\beta$ -глюканом, синтетическим олигосахаридом и метаболитами *A. alternata*.

Для изучения цитокинового профиля были взяты образцы крови 22 человек в возрасте от 12 до 32 лет, из них 13 женщин и 9 мужчин. Цельную периферическую кровь 12 человек культивировали 24 часа в присутствии синтетического олигосахаридов в концентрации 50 мкг/мл и (1,3)- $\beta$ -D-глюкана (“GlucateLL kit”, США) в концентрации 2,5 пкг/мл. Кровь 10 человек культивировали в присутствии культуральной жидкости *A. alternata* в конечной концентрации белка 1 мкг/мл и аллергенного экстракта *A. alternata* (“Allergopharma”, Германия) с конечной концентрацией 20 SBU/мл. Гриб культивировали в жидкой среде Чапека в течение 2 нед при 25 °С. Культуральную жидкость фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Уровень цитокинов IL-12p70, INF- $\gamma$ , IL-2, IL-10, IL-8, IL-6, IL-4, IL-5, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  определяли в супернатантах при помощи тест-

системы FlowCytomix Human Th1/Th2 11 plex (e-Bioscience, Austria) на проточном цитометре Cytomix FC-500 (Beckman Coulter, USA).

Спонтанный синтез всех цитокинов за исключением IL-8 (0-209,04 пкг/мл) не выявлялся. Синтетический олигосахарид и (1,3)- $\beta$ -D-глюкан индуцировали повышение уровня TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-6 во всех культурах крови. Синтез IL-10 и IL-1 $\beta$  наблюдали в 12 образцах в присутствии (1,3)- $\beta$ -D-глюкана и 11 образцах в присутствии синтетического олигосахариды. Продукция IL-2 выявлена в 10 и 5 образцах в присутствии (1,3)- $\beta$ -D-глюкана и синтетического олигосахариды соответственно. Повышение уровня IFN- $\gamma$  наблюдали в 3 случаях в присутствии (1,3)- $\beta$ -D-глюкана, а в присутствии синтетического олигосахариды только в 1 образце. Синтетический олигосахарид индуцировал повышение уровня цитокинов в следующих пределах (пкг/мл): IFN- $\gamma$  (0-12), IL-2 (26-74), IL-10 (50-983), IL-8 (738-12192), IL-6 (310-26862), IL-1 $\beta$  (19-1157), TNF- $\alpha$  (172-6142). (1,3)- $\beta$ -D-глюкан стимулировал продукцию в пределах (пкг/мл): IFN- $\gamma$  (4-70), IL-2 (16-126), IL-10 (244-1584), IL-8 (4724-27922), IL-6 (1914-26862), IL-1 $\beta$  (440-2166), TNF- $\alpha$  (1213-6782). Синтетический олигосахарид и (1,3)- $\beta$ -D-глюкан оказывали позитивно коррелирующее влияние на продукцию TNF- $\alpha$  ( $r = 0,664$ ;  $p = 0,018$ ) и IL-10 ( $r = 0,580$ ;  $p = 0,048$ ). В присутствии аллергена *A. alternata* во взятой концентрации не было выявлено активации синтеза изучаемых цитокинов. В присутствии культуральной жидкости *A. alternata* была выявлена продукция цитокинов в пределах (пкг/мл): IL-10 (10-210) в 6 образцах, IL-8 (1480-14541), IL-6 (67-2909), IL-1 $\beta$  (64-275) в 7 образцах, TNF- $\alpha$  (57-1013) в 10 образцах.

Таким образом, профиль цитокинов, продуцируемых под действием синтетического нона- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-глюкозида, аналогичен таковому в присутствии (1,3)- $\beta$ -D-глюкана, а также метаболитов, выделяемых в жидкую среду при культивировании *A. alternata*. При этом очевидно доминирование продукции IL-8, IL-6 и TNF- $\alpha$ . Показано, что в активации синтеза противовоспалительного IL-10 и провоспалительных IL-2, IL-8, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  цитокинов участвуют линейные участки (1,3)- $\beta$ -D-глюканов.

### Список литературы

1. Sakurai T, Ohno N, Yadomae T. Changes in immune mediators in mouse lung produced by administration of soluble (1-3)- $\beta$ -D-glucan. Biol Pharm Bull. 1994, 17: 617-22.
2. Zang K, Petty HR. Influence of polysaccharides on neutrophil function: specific antagonists suggest a model for cooperative

- saccharide-associated inhibition of immune complex-triggered superoxide production. *J Cell Biochem.* 1994, 56: 225-35
3. Chen J, Seviour R. Medicinal importance of fungal beta-(1-->3), (1-->6)-glucans. *Mycol Res.* 2007; 111 (Pt 6): 635-52.
  4. Kim HS, Hong JT, Kim Y, Han SB. Stimulatory effect of  $\beta$ -glucans on immune cells. *Immune Netw.* 2011; 11(4): 191–95.
  5. Ахапкина И.Г., Краханенкова С.Н., Добронравова Е.В., Шушпанова Е.Н. Изучение профиля гиперчувствительности к пыльцевым и грибным аллергенам в московском регионе. *Клин. лаб. диагн.* 2014, 5: 41-44.

## МЕЛАНИНЫ ИЗ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ *INONOTUS OBLIQUUS* И ИХ ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2 ТИПА

Ананько Г.Г., Теплякова Т.В., Бардашева А.В. Ильичева Т.Н.  
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово,  
Новосибирская область

Гриб чага *Inonotus obliquus* издавна используется в народной медицине. В России с 50-х гг. прошлого века выпускается препарат Бефунгин, основой которого являются водорастворимые хромоге-ны, меланины. Ранее было показано, что меланины из природного сырья чаги обладают противовирусной активностью [1].

Из-за интенсивных заготовок запасы природной чаги быстро уменьшаются, поэтому становятся актуальными биотехнологиче-ские способы получения меланинов в глубинной культуре.

**Цель работы** – сравнительное исследование эффективности раз-личных режимов глубинного культивирования чаги и возможности использования полученных меланинов в качестве антивирусного средства в отношении вируса простого герпеса 2 типа.

**Материалы и методы.** Штамм *I. obliquus* F-1244 был выделен в культуру из склероциев чаги, собранных в республике Тыва. Для получения меланинов в глубинной культуре использовали глюко-зо-триптонную среду (ГТС) следующего состава, г/л: глюкоза – 30; триптон – 2,5; дрожжевой экстракт – 1,25;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 4,4; г/л  $\text{MgSO}_4$  – 0,25; pH 7,0 – 8,0. Культивирование осуществляется в 0,75 л колбах на качалке при 200 об/мин, 26 °С в течение 12–15 сут до максимального накопления меланинов.

Для выделения меланинов культуральную жидкость (КЖ) от-деляли от мицелия посредством фильтрования глубинной культуры на бумажном фильтре; меланины осаждали путем закисления среды соляной кислотой до pH < 2,0. Меланины из мицелия экстрагиро-вали 2%-ным раствором NaOH (1:10), прогревая на водяной бане в течение 2 ч при 100 °С. Экстракты меланинов объединили и про-вели очистку от примесей посредством 3-кратного переосаждения.

Для исследования противовирусной активности использована культура клеток Vero. Клетки выращивали на среде MEM (Gibco) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки плодов коров (Gibco), 100 Ед/мл бензилпенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 100 мкг/мл канамицина в атмосфере с 5%-содержанием  $\text{CO}_2$ . Клетки Vero

рассевали на 96-луночные планшеты в количестве 20 000 кл/лунку. Приготовленные разведения препаратов наносили на двухсуточную культуру (по 3 повтора на каждое разведение). Для определения противовирусной активности в лунки добавляли вирус в дозе 100 БОЕ/мл. Учет реакции проводили на 4-е сут.

Оценка противовирусной активности образцов и их токсичности для культуры клеток Vero: оценка активности образцов была проведена при помощи анализа редукции бляшек. Клетки окрашивали генциан-виолетом. Результаты теста регистрировали с помощью фотометра 680 Земфира с управляющим компьютером BioRed RU Zemf в соответствии с инструкцией производителя. Получены показатели оптической плотности (ОП570) для каждой из лунок планшета.

Обработку данных проводили с помощью Microsoft Office Excel 2003. В таблицах приведены средние статистически достоверные данные при 95%-й вероятности.

**Результаты и обсуждение.** Протестировано 4 фактора, которые потенциально могли бы повлиять на продукцию меланина культурой *I. obliquus* F-1244. Так, ранее было показано [2], что облучение чашек с инокулюмом *I. obliquus* синим светом в последующем стимулировало рост глубинной культуры и синтеза меланина. Мы использовали иную схему, постоянное облучение синим светом растущей глубинной культуры чаги, которое оказало негативное влияние на продукцию меланина – выход меланинов снизился в 1,8 раза, в сравнении с контролем (табл. 1; см. след. стр.).

Вероятно, влияние облучения носит сложный характер и его эффект существенным образом зависит от интенсивности и стадии роста культуры. Второй исследованный фактор, добавка перекиси водорода в культуру, оказал временный позитивный эффект на продукцию меланинов, но конечный выход меланинов существенно не отличался от контроля. Результаты говорят о том, что добавка перекиси может ускорить процесс получения меланинов и эти выводы согласуются с ранее полученными данными [3] о стимулирующем влиянии перекиси водорода на продукции меланинов.

В варианте № 4 колбы с 4-суточной культурой чаги были помещены в холодильник (4–6 °С) на трое суток и затем возвращены на качалку. В этом варианте позитивный эффект был более заметным: конечный выход меланинов увеличился 1,3 раза. Четвертый фактор, добавка сульфата меди в питательную среду, как стимулятора меланиногенеза, описан в патенте [4]. Действительно, добавка меди оказала самый заметный эффект: синтез меланинов начался уже на

Таблица 1. Динамика накопления меланинов в глубинной культуре штамма *Inonotus obliquus* F-1244

№ п/п	Описание культуры	Содержание меланинов, г/л глубинной культуры				Скорость накопления меланина, г/л/сут
		4 сут	7 сут	10 сут	14 сут	
1	*Контроль	0,05 ± 0,02	0,61 ± 0,09	0,83 ± 0,07	0,92 ± 0,11	0,07
2	Облучение синим светом	0,03 ± 0,02	0,34 ± 0,06	0,39 ± 0,07	0,50 ± 0,08	0,04
3	+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> до 0,05 %	0,22 ± 0,06	0,74 ± 0,13	0,89 ± 0,09	0,98 ± 0,15	0,07
4	Охлаждение в холодильнике, 3 сут	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,62 ± 0,05	1,21 ± 0,16	0,09
5	+ CuSO <sub>4</sub> до 0,005 г/л	0,53 ± 0,09	1,92 ± 0,24	3,06 ± 0,44	4,68 ± 0,51	0,32

\*Контроль – глубинная культура *Inonotus obliquus* F-1244 на среде ГТС (см. методы), выращенная на качалке, при 26 °С и 200 об/мин, в течение 14 суток. Другие культуры выращивали также на ГТС, как контроль, с небольшими модификациями условий, которые указаны в таблице.

вторые сутки, когда в других вариантах меланин отсутствовал. За счет более раннего начала синтеза и более высокой скорости синтеза в варианте №5 выход меланинов составил 4,7 г/л глубинной культуры, что в 5 раз больше, чем в контроле. Эффективность этой добавки обусловлена тем, что ионы меди являются коферментами лакказы, участвующей в синтезе предшественников меланина [5].

Таким образом, наиболее эффективным стимулятором синтеза меланинов в глубинной культуре штамма *I. obliquus* F-1244 является добавка ионов меди.

Добавка ионов меди в питательную среду индуцирует процесс синтеза меланинов в культуре *I. obliquus* F-1244, что позволяет существенно (в ~ 5 раз) увеличить выход меланинов. Поэтому представляло интерес сравнительное исследование антивирусной активности меланинов, полученных на среде ГТС и среде ГТС с добавкой сульфата меди (табл. 2).

Таблица 2. Токсичность и противовирусная активность образцов из глубинной культуры *Inonotus obliquus* F-1244 (ВПГ-2)

№ п/п	Подготовка экстракта	TC <sub>50</sub> (мкг/мл)	IC <sub>50</sub> (мкг/мл)	IS
1.	Культуральная жидкость (без мицелия), среда ГТС	>4720	9,2±1,3	>513
2.	Культуральная жидкость (без мицелия), среда ГТС + 0,08 г/л CuSO <sub>4</sub>	2000±400	75±15	27
3.	Очищенный меланин, выделенный из культуры F-1244, выращенной на среде ГТС	4300±600	<4,9	>878
4.	Очищенный меланин, выделенный из культуры F-1244, выращенной на среде ГТС с добавкой CuSO <sub>4</sub> (0,08 г/л)	>2280	60±9	>38

Примечания:

- TC50 – токсическая концентрация образцов, при которой погибает 50 % неинфицированных клеток MDCK;
- IC50 – концентрация сухих веществ в образцах, подавляющая развитие 50 % вируса гриппа;
- IS – индекс селективности, определяется как отношение TC50/IC50.

Оказалось, что меланины, полученные в присутствии ионов меди, существенно менее активны (более чем на порядок) в отношении вируса простого герпеса 2-го типа. В синтезе меланинов участвует комплекс ферментов, в частности, лакказы, коферментом которой являются ионы меди. Очевидно, конечная структура синтезируемых молекул меланинов зависит от соотношения активностей всех ферментов, участвующих в синтезе полимера. Можно предположить, что добавка меди, стимулируя работу лакказы, смещает точку динамического равновесия в работе ферментативного комплекса, что приводит к определенным изменениям конечной структуры меланинов. Таким образом, наблюдаемое снижение активности

меланинов, по-видимому, является результатом модификации их структуры, обусловленной, в свою очередь, гиперстимулирующей фермента лакказы ионами меди.

Проведенное исследование демонстрирует сложность задач, стоящих перед биотехнологами на пути создания промышленной технологии производства меланинов. Казалось бы, безусловный успех, увеличение выхода меланинов в ~5 раз за счет добавки меди, тем не менее полностью нивелируется снижением его противовирусной активности из-за сопутствующей модификации продукта. В то же время, выявленный эффект может послужить основой для будущей работы, направленной на исследование молекулярных механизмов антивирусной активности меланинов.

### Список литературы

1. Патент №2480227 Российская Федерация, МПК C12N1/14 A61K36/06, Противовирусное средство на основе меланина. ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (RU). №2011127305/15, заявл. 01.07.2011; опубл. 27.04.2013 Бюл. № 12: 11 с.
2. Поединок Н.Л. Световая регуляция роста и меланинообразования у *Inonotus obliquus* (Pers.) Pilat *Biotechnologia Acta* 2013; 6(2): 115-20.
3. Zheng W, Zhao Y, Zhang M et al. Oxidative stress response of *Inonotus obliquus* induced by hydrogen peroxide. *Med Mycol.* 2009; 47(8): 814-23.
4. Патент РБ. ВУ 10670 С1 2008.0630. Штамм гриба *Inonotus obliquus* БИМ F-350 Д – продуцент меланина, обладающий антимуtagenными свойствами.
5. Thurston CF. The structure and function of fungal laccases. *Microbiology.* 1994; 140(1): 19-26.

## ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ И СУММАРНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2-го ТИПА И ВИРУСА ГРИППА ТИПА А

*Бардашева А.В., Косогова Т.А., Ильичева Т.Н., Теплякова Т.В.*  
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово,  
Новосибирская область

В лаборатории микологии ГНЦ ВБ Вектор с 2007 года проводятся исследования по выделению базидиальных грибов в чистую культуру и изучению противовирусной активности водных экстрактов, полисахаридов, меланинов [1].

Объектами данных исследований служили 11 штаммов грибов-базидиомицетов (*Pleurotus ostreatus* AI-13-03, БШ-08-01; *P. pulmonarius* К-96; *Trametes gibbosa* К-114; *T. pubescens* С-10-01; *T. versicolor* К-09-01; *T. trogii* К-10-05; *Daedaleopsis confragosa* 2266; *Fomitopsis pinicola* П-8; *Ganoderma applanatum* М-8; *Piptoporus betulinus* ОБ-10); биологически активные компоненты, выделенные из биомассы эффективных штаммов высших базидиальных грибов (полисахариды, белки); вирус простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) штамм MS; вирус гриппа А/California/07/09 (H1N1 pdm09).

Для получения биомассы эффективных и продуктивных штаммов культивирование проводили в жидких питательных средах в термостатированных качалках, в колбах объемом 500 мл с 80 мл глюкозо-триптонной среды. Были отобраны наиболее продуктивные и технологичные штаммы базидиальных грибов, из которых готовили водные экстракты. Проводили определение токсичности водных экстрактов на культурах клеток Vero и MDCK и оценивали их противовирусную активность [2-4].

В ходе исследования противовирусной активности базидиальных грибов в отношении ВПГ-2 (штамм MS) были протестированы водные экстракты из биомассы грибов, подготовленных двумя способами (табл. 1), и водорастворимые суммарные полисахариды (табл. 2).

Из табл. 1 видно, что наиболее активным является экстракт из *Ganoderma applanatum* М-8 (IS=7,8), полученный в результате замораживания биомассы в жидком азоте и последующего разрушения. Противовирусная активность может быть связана с действием

Таблица 1. Противовирусная активность водных экстрактов из грибов, подготовленных разными способами, в отношении вируса простого герпеса 2 типа

Вид и штамм гриба	Способ подготовки					
	Замораживание в жидком азоте, растворение в ФСБ			Прогревание на водяной бане при 60 °С, 1 час		
	ТС <sub>50</sub> , мг/мл	IC <sub>50</sub> , мг/мл	IS	ТС <sub>50</sub> , мг/мл	IC <sub>50</sub> , мг/мл	IS
<i>Trametes trogii</i> К-10-05	1,60	–	–	0,95	–	–
<i>Trametes pubescens</i> С-10-01	0,70	0,40	1,7	0,45	–	–
<i>Trametes versicolor</i> К-09-01	0,30	–	–	0,75	–	–
<i>Trametes gibbosa</i> К-114	0,90	0,48	1,8	0,80	–	–
<i>Pleurotus ostreatus</i> АИ-13-03	1,40	–	–	0,55	–	–
<i>Daedaleopsis confragosa</i> 2266	>6,5	2,6	>2,5	0,75	–	–
<i>Pleurotus pulmonarius</i> К-96	0,95	–	–	0,6	–	–
<i>Ganoderma applanatum</i> М-8	0,47	0,06	<b>7,8</b>	0,21	0,09	2,3
<i>Fomitopsis pinicola</i> П-8	0,70	–	–	0,3	–	–
<i>Piptoporus betulinus</i> ОБ-10	0,5	0,12	4,2	0,55	0,17	3,2

Примечания:

ФСБ – фосфатно-солевой буфер;

ТС50 – 50%-ная токсическая доза: доза препарата, подавляющая рост клеток на 50%;

IC50 – 50 %-ная ингибирующая доза: доза препарата, ингибирующая размножение вируса на 50%;

IS – индекс селективности, или терапевтический индекс: равен отношению 50%-ной токсической дозы препарата к 50%-ной ингибирующей дозе (ТС50/ IC50);

– нет активности.

гликопротеинов, так как именно при обработке жидким азотом в экстракте в большей степени сохранились белки. Возможно, при термической обработке извлекались только полисахариды, а белки подвергались денатурации. Согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [2] перспективными для дальнейших исследований являются соединения с индексом селективности более 8.

Выделение водорастворимых суммарных полисахаридов проводили после прогревания биомассы грибов при 60 °С. Исходя из данных табл. 2, перспективными соединениями являются суммарные полисахариды *Trametes pubescens* С-10-01 (IS>68,6); *T. versicolor* К-09-01 (IS>11,3); *T. gibbosa* К-114 (IS>74,2); *Fomitopsis pinicola* П-8 (IS=8,00). Эти же штаммы при оценке продуктивности имели высокий ростовой коэффициент.

Таблица 2. Противовирусная активность суммарных полисахаридов из грибов в отношении вируса простого герпеса 2 типа

Вид и штамм гриба	TC <sub>50</sub> (мг/мл)	IC <sub>50</sub> (мг/мл)	IS
<i>Trametes trogii</i> К-10-05	2,05	–	–
<i>Trametes pubescens</i> С-10-01	>4,8	0,07	>68,6
<i>Trametes versicolor</i> К-09-01	>5,65	0,5	>11,3
<i>Trametes gibbosa</i> К-114	>4,45	0,06	>74,2
<i>Pleurotus ostreatus</i> АИ-13-03	>5,15	–	–
<i>Daedaleopsis confragosa</i> 2266	>5,00	–	–
<i>Pleurotus pulmonarius</i> К-96	>5,35	–	–
<i>Ganoderma applanatum</i> М-8	>1,5	–	–
<i>Fomitopsis pinicola</i> П-8	>4,00	0,50	8,0
<i>Piptoporus betulinus</i> ОБ-10	>1,0	–	–

Примечание – нет активности.

В отношении вируса гриппа было исследовано 4 водных экстракта из биомассы грибов рода Вешенка (*Pleurotus*) (табл. 3).

Таблица 3. Токсичность и противовирусная активность образцов в отношении вируса гриппа A/California/07/09 (H1N1 pdm09)

Код образца	Колич. сухих веществ, мг/мл	Штамм гриба, подготовка экстракта	TC <sub>50</sub> (мг/мл)	IC <sub>50</sub> (мг/мл)	IS
14-01	13,0	<i>Pleurotus ostreatus</i> БШ-08-01, водяная баня, 1 ч	>13	1,26	>10,31
14-02	14,0	<i>Pleurotus ostreatus</i> БШ-08-01, УЗ-дезинтеграция	0,23	–	–
14-03	15,0	<i>Pleurotus pulmonarius</i> К-96, ультразвуковая дезинтеграция	0,55	–	–
14-04	12,5	<i>Pleurotus pulmonarius</i> К-96, водяная баня, 1 ч	>6,25	4,9	>1,27

Примечание – нет активности.

Образцы из мицелия *P. ostreatus* БШ-08-01 и *P. pulmonarius* К-96, подготовленные с помощью дезинтеграции клеток грибов ультразвуком, оказались более токсичными (0,23 и 0,55 мг/мл соответственно) по сравнению с приготовленными на кипящей водяной бане (>13,0 и >6,25 мг/мл соответственно) и не проявили противовирусного эффекта. Макс. активность проявил *P. ostreatus* БШ-08-01 (IS>10,31; IC<sub>50</sub>=1,26 мг/мл), полученный на водяной бане (табл. 3).

### Список литературы

1. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Ананько Г.Г., Бардашева А.В., Ильичева Т.Н. Противовирусная активность базидиальных грибов. Обзор литературы. Пробл. мед. микол. 2014; 16(2): 15-25.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-изд., перераб. и доп. М.: «Медицина». 2005: 832 с.
3. Gong EY. Antiviral methods and protocols. Humana Press. 2013: 452 p.
4. Finter NB. Dye uptake methods for assessing viral cytopathogenicity and their application to interferon assays. J Gen Virol. 1969; 1(5): 419-27.

## СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ И БЕЛКОВ В ЭКСТРАКТАХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ, ПОДГОТОВЛЕННЫХ РАЗНЫМИ СПОСОБАМИ

Бардашева А.В., Косогова Т.А., Теплякова Т.В.  
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор»,  
Кольцово, Новосибирская область

Содержание полисахариды и их комплексы с белками в биомассе зависит как от штамма гриба, так и от методов культивирования и выделения полисахаридов и белков [1]. С целью отработки технологии получения полисахаридов из биомассы грибов нами было проведено исследование по определению содержания суммарных полисахаридов и белков в экстрактах, полученных из глубинного мицелия пяти штаммов базидиомицетов, выделенных из плодовых тел, собранных в Западной Сибири.

Экстракты получали двумя способами: прогреванием мицелия на кипящей водяной бане и разрушением замороженного в жидком азоте мицелия в ступке с последующим ресуспендированием в фосфатно-солевом буфере. Концентрации полисахаридов в образцах определяли антроновым методом [2]. Концентрацию белков определяли по методу Бредфорда [3].

В табл. 1 приводится характеристика образцов, полученных из биомассы базидиальных грибов, по содержанию в них полисахаридов и белков.

Сравнивая данные по содержанию полисахаридов и белков в экстрактах, полученных с помощью указанных способов подготовки можно отметить следующее. Для грибов рода *Trametes* содержание суммарных полисахаридов в экстрактах практически не зависело от способа подготовки образцов, но зависела от вида гриба. Наибольшее количество полисахаридов в экстрактах при извлечении обоими способами отмечено для *T. gibbosa* К-114 (11,0 % и 13,1 % от содержания сухих веществ в образцах). Из гриба *Ganoderma applanatum* М-8 наибольшее количество полисахаридов отмечено в экстрактах, полученных при использовании водяной бани, по сравнению с жидким азотом (13,0 и 7,7% соответственно). У *Fomitopsis pinicola* П-8, наоборот, наибольшее количество полисахаридов отмечено в экстрактах, где биомасса была разрушена с помощью азота (10 и 8,2 % соответственно).

Количество суммарных белков в экстрактах, полученных с помощью жидкого азота, выше для всех исследованных видов грибов.

Таблица 1. Содержание полисахаридов и белков в экстрактах, полученных разными способами из глубинного мицелия базидиомицетов

Вид и штамм гриба	Способ получ. экстракта	Колич. сухих веществ в экстракте (мг/мл)	Содержание полисахаридов в экстракте		Содержание белков в экстракте	
			(мкг/мл)	(% от сухих вещ.)	(мкг/мл)	(% от сухих вещ.)
<i>Trametes pubescens</i> С-10-01	Жидкий азот	6,4±0	463,5±103,6	7,2	201,5±15,2	3,1
	Водяная баня	5,1±0,2	459,1±94,0	8,9	50,1±4,6	0,9
<i>Trametes versicolor</i> К-09-01	Жидкий азот	11,4±0	361,9±38,5	3,1	123,6±2,1	1,0
	Водяная баня	15,0±0	469,3±50,6	3,1	55,9±3,4	0,3
<i>Trametes gibbosa</i> К-114	Жидкий азот	8,8±0	970,6±89,2	11,0	200,4±36,0	2,2
	Водяная баня	8,8±0,2	1158,2±50,6	13,1	98,6±2,4	1,1
<i>Ganoderma applanatum</i> М-8	Жидкий азот	5,4±0,2	421,6±2,4	7,7	196,2±31,9	3,6
	Водяная баня	7,2±0,2	938,2±390,6	13,0	0	0
<i>Fomitopsis pinicola</i> П-8	Жидкий азот	13,95±0,2	1402,0±14,4	10,0	165,7±3,0	1,1
	Водяная баня	14,1±0,4	1161,6±258,0	8,2	35,7±5,1	0,2

### Список литературы

1. Теплякова Т.В., Косогова Т.А., Ананько Г.Г. и др. Противовирусная активность базидиальных грибов. Обзор литературы. Пробл. мед. микол. 2014; 16(2): 15-25.
2. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Методика количественного определения суммарного содержания полисахаридов в семенах льна (*Linum usitatissimum* L.). Хим. растит. сырья. 2007; 4: 85-90.
3. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72: 248-54.

**ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ  
ПОЛИСАХАРИДОВ ЕЖЕВИКА УСИКОВОГО  
*HERICIUM CIRRHATUM PERS. 1794* В ОТНОШЕНИИ  
ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2 ТИПА**

*Бардашева А.В., Ильичёва Т. Н., Дурыманов А.Г., Теплякова  
Т.В.*

*ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор»,  
Кольцово, Новосибирская область*

Базидиомицеты обладают признанными мощными и уникальными лекарственными свойствами. Со второй половины 20-го века лекарственные грибы интенсивно исследуются на их эффективность, новые противоопухолевые и иммуномодулирующие вещества идентифицированы и включены в фармацевтическую продукцию [1]. Биологически активные вещества базидиомицетов включают полисахариды, тритерпеноиды, протеины, аминокислоты, нуклеотиды, алкалоиды, стероиды, лактоны, жирные кислоты, ферменты и лектины [2].

Некоторые из компонентов грибов обладают противовирусной активностью. Они могут напрямую ингибировать вирусные ферменты, синтезирующие вирусные нуклеиновые кислоты, или адсорбцию и проникновение вирусов в клетки млекопитающих [3].

К уже известным препаратам с противовирусной активностью относятся: PSK (*Krestin*) – белок-связанный полисахарид [4]; PSP – полисахаропептид [5]; лентинан [6] и др.

Результаты данного исследования посвящены изучению противовирусной активности полисахаридов базидиомицета *Hericium cirrhatum*. Активность полисахаридов из грибов рода *Hericium* против некоторых вирусных инфекций, например, ВИЧ, объясняется их более высоким содержанием по сравнению с другими грибами [7].

*Hericium cirrhatum* Pers. 1794 выделен из плодового тела, собранного на территории Центрально-Сибирского ботанического сада, г. Новосибирск В.А. Власенко. Для получения биомассы *Hericium cirrhatum* культивирование проводили на круговых термостатированных качалках в колбах объемом 500 мл с 80 мл глюкозо-триптонной среды при температуре  $26 \pm 2$  °C при 190 об/мин [8,9]. Для выделения полисахаридов биомассу базидиомицета, полученную в результате 7-суточного глубинного культивирования, гомогенизировали в дистиллированной воде в соотношении 1:5. Смесь выдерживали на водяной бане при  $60 \pm 2$  °C в течение 2 ч, затем

центрифугировали при 10000 об/мин при комнатной температуре в течение 20 мин. Полученный супернатант обрабатывали ступенчато этанолом следующим образом: 1 – от 0 до 30 %; 2 – 30–50 %; 3 – 50–60%; 4 – 60–0 %, 5 – 70–80% насыщения. При выделении суммарных полисахаридов (степень насыщения этанолом 0 – 82%) супернатант смешивали с 96% этанолом в соотношении 1:5. Осадок фракций формировался при температуре  $4 \pm 2$  °С в течение ночи. Полученные осадки отделяли центрифугированием 10000 об/мин при комнатной температуре в течение 20 мин, затем растворяли в дистиллированной воде. Полученные растворы хранили при минус  $30 \pm 2$  °С до исследования [10]. Концентрацию полисахаридов в образцах определяли антроновым методом [11].

Противовирусную активность исследовали *in vitro* на клетках Vero в тесте адсорбции нейтрального красного согласно работе [12]. Кратко, из образцов полисахаридов готовили серийные двукратные разведения на поддерживающей питательной среде, по 100 мкл каждого разведения вносили в 96-луночный планшет со сформировавшимся монослоем. Две лунки каждого разведения заражали 100 бляшкообразующими единицами (БОЕ) вируса в 100 мкл поддерживающей питательной среды, тогда как в другие две лунки добавляли по 100 мкл поддерживающей питательной среды для определения токсичности образца. После заражения вирусом клетки инкубировали при 37 °С в атмосфере с 5%-содержанием  $\text{CO}_2$  до полного цитопатического эффекта. На 4-е сутки в каждую лунку добавляли раствор нейтрального красного (Реахим) в конечной концентрации 0,22 мг/мл и инкубировали планшеты при 37 °С в течении 1,5 ч. По истечении инкубационного периода среду удаляли из планшетов и лунки промывали дважды фосфатным буфером. Поглощенный краситель экстрагировали добавлением 100 мкл спиртового раствора 0,1М фосфата аммония (50% спирта и 50% 0,1М  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ). Планшеты выдерживали 30 мин при комнатной температуре.

Результаты окрашивания регистрировали с помощью фотометра BioRed 680 при длине волны 490 нм [12]. Вычисляли среднее значение ОП для каждой группы из двух лунок с различными концентрациями образца. По полученным значениям ОП строили график зависимости ОП от концентрации образца. По графикам определяли 50% токсическую концентрацию (ТС50) и 50% ингибирующую концентрацию (IC50). Индекс селективности (IS) определяли как отношение 50 % токсической концентрации (ТС50) к 50 % ингибирующей концентрации (IC50) [13].

Таблица 1. Выход полисахаридов *Hericium cirrhatum* в зависимости от степени насыщения спиртом

Варианты	Степень насыщения спиртом, %	V, мл	Концентрация полисахаридов, мкг/мл
Водный экстракт	0	130,0	1356,0±7,2
Суммарные полисахариды	0 – 82	6,7	4011,6±120,5
1	0 – 30	3,0	411,8±114,8
2	30 – 50	3,7	5046,9±811,3
3	50 – 60	2,0	536,5±64,5
4	60 – 70	4,2	806,9±204,2
5	70 – 80	3,0	214,8±26,0

Согласно табл. 1, наибольший выход полисахаридов наблюдался во 2-м варианте с насыщением этанолом от 30 до 50% (5046,9 ± 811,3 мкг/мл). В ходе исследования противовирусной активности в отношении ВПГ-2 водных экстрактов и полисахаридов, полученных путем ступенчатой обработки этанолом, было установлено, что концентрирование полисахаридов способствует увеличению противовирусной активности в отношении ВПГ-2 (табл. 2). Так, индекс селективности водного экстракта составляет 19, суммарных полисахаридов 24, а полисахаридов варианта 2 – 148.

Таблица 2. Противовирусная активность полисахаридов *Hericium cirrhatum*

Варианты	TC <sub>50</sub> , мг/мл	IC <sub>50</sub> , мг/мл	IS
Водный экстракт	77	4	19
Суммарные полисахариды	120	5	24
1	182	5	36
2	2370	16	148
3	12	0,6	20
4	7	0,3	23
5	11	1	11

## Примечания:

ТС50 – 50 %-ная токсическая доза: доза препарата, подавляющая рост клеток на 50 %;

IC50 – 50 %-ная ингибирующая доза: доза препарата, ингибирующая размножение вируса на 50 %;

IS – индекс селективности, или терапевтический индекс: равен отношению 50 %-й токсической дозы препарата к 50 %-ной ингибирующей дозе (ТС50/ IC50).

Ранее, на примере экстрактов и полисахаридов из вешенки, было показано, что противовирусный эффект в отношении ВПП-2 возрастает по мере увеличения в образцах концентрации полисахаридов [14]. Согласно полученным данным, для дальнейшей отработки технологии получения противовирусного препарата из биомассы гриба *H. cirrhatum* перспективным для извлечения полисахаридов является вариант 2, согласно которому использовалось насыщение этанолом 30–50%.

## Список литературы

1. Liang Y, Chen Y, Liu H, Luan R et al. The antitumor rejection effect of protein components from medicinal fungus. *Biomed Prevent Nutr.* 2011; 1: 245–54.
2. Li N, Yan C, Hua D, Zhang D. Isolation, purification, and structural characterization of a novel polysaccharide from *Ganoderma capense*. *Intern J Biol Macromol.* 2013; 57: 285–90.
3. Lindequist U, Niedermeyer T, Julich W-D. The pharmacological potential of mushrooms. *eCAM.* 2005; 2(3): 285–99.
4. Tochikura T, Nakashima H, Hirose K, Yamamoto N. A biological response modifier, PSK, inhibits human immunodeficiency virus infection in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987; 148: 26–33.
5. Collins R, Ng T. Polysaccharides from *Coriolus versicolor* has potential for use against human immunodeficiency virus type 1 infection. *Life Sci.* 1997; 60(25): 383–7.
6. Bisen PS, Baghel RK, Sanodiya BS et al. *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. *Curr Medicin Chem.* 2010;17(22): 2419–30.
7. Юй Л., Тулигуэл, Хайин Б. и др. Лекарственные грибы в традиционной китайской медицине и современных биотехнологиях; НИИ сельского хозяйства Северо-Востока. О-Краткое, 2009: 320 с.
8. Chena W, Zhaoa Z, Li Y. Simultaneous increase of mycelial biomass and intracellular polysaccharide from *Fomes fomentarius* and its biological function of gastric cancer intervention. *Carbohydr Polym.* 2011; 85: 369–75.

9. Автономова А.В. *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst., трутовик лакированный: штаммовое разнообразие, антибиотические свойства и противоопухолевое действие. Дисс. ... канд. биол. н. М. 2006: 121 с.
10. Chihara G, Hamuro J, Maeda YY et al. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res.* 1970; 30(11): 2776-81.
11. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Методика количественного определения суммарного содержания полисахаридов в семенах льна (*Linum usitatissimum* L.). *Хим. растит. сырья.* 2007; 4: 85 – 90.
12. Paragas J, Whitehouse CA, Endy TP, Bray M. A simple assay for determining antiviral activity against Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antivir Res.* 2004; 62(1): 21-5.
13. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-изд., перераб. и доп. – М.: «Медицина». 2005: 832 с.
14. Разумов И.А., Косогова Т.А., Казачинская Е.И. и др. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. *Антиб. химиотер.* 2010; 55(9-10): С. 14-8.

## БИОАКТИВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ РОДА *MARASMIUS* Fr. И *MYCETINIS* Earle

Белова Н.В.

Ботанический институт им. В.Л.Комарова, Санкт-Петербург

Род *Marasmius* Fr. сем. Marasmiaceae Fr. впервые упомянут в 1935 г. Фризом, который позднее дал его полный диагноз [1]. За прошедшее время объем рода *Marasmius* Fr. и его диагнозы были подвергнуты многочисленным ревизиям на основе изучения новых видов, полученных из различных территорий.

Род *Marasmius* Fr., по данным работы [2], охватывает 600 видов, произрастающих во многих регионах мира, однако, по мнению авторов, это число может быть удвоено или утроено в ходе изучения мирового видового разнообразия грибов. Представители рода *Marasmius* Fr. являются сапротрофами и часто субстратспецифичны к листьям древесных пород (*Alnus*, *Quercus*, *Fagus*) или иглокам хвойных растений (*Pinus*, *Picea*, *Abies*). Однако эта экологическая характеристика не рассматривается как очень значимая.

Род *Mycetinis* Earle. сем. Marasmiaceae Fr. небольшой и включает десять видов с типовым видом *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. [3, 4]. Некоторые систематики рассматривают европейские виды этого рода в семействе Omphalotaceae Bresinsky emend [1, 2].

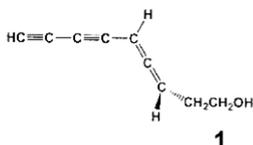
Большинство видов рода *Mycetinis* Earle. являются сапротрофами. Базидиомицет *Mycetinis epidryas* (Kühner) Antonín & Noordel, встречающийся в арктических и альпийских регионах, растет на стволах и листьях видов *Dryas* sp. богатых танинами (*D. alaskanus*, *D. drammondii*, *D. integrifolia* и *D. octopetala*). Другой арктический вид *Mycetinis kallioneus* (Huhtinen) Antonín & Noordel встречается на остатках карликовых кустарников и трав. *M. scorodonius* растет как на остатках хвойных, так и широколиственных деревьев.

Вид *Mycetinis scorodonius* (Fr.) паразитирует на растениях *Calluna* sp. и *Artemisia campestris* и образует ризоморфы. Плодовые тела всех видов рода *Mycetinis* Earle. характеризуются специфическим чесночным запахом, что отражается в русских названиях: чесночник большой – *Mycetinis alliaceus*, чесночник обыкновенный – *Mycetinis scorodonius*, а также чесночник дубовый – *Marasmius prasiosmus*.

В данном обзоре рассмотрены биоактивные компоненты базидиальных грибов двух родов сем. Marasmiaceae Fr. – *Marasmius* Fr. и *Mycetinis* Earle. На рис. приведены: 1 – маразин из *M. ramealis*; 2 – скоро-

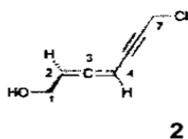
денин из *M. scorodonius*; 3 – 6,9-дигидрокси 3(15)-кариофиллен-4,8-дион из *Marasmius* sp.; 4 – тремулановый сесквитерпеноид из *M. cladophyllus*; 5 – аллиакоид из *M. alliaceus*; 6 – маразмозная кислота из *M. conigenus*; 7, 8, 9, 10 – маразмановые сесквитерпеноиды из *L. piperatus* и *R. foetus*.

Плодовые тела *Marasmius androsaceus* (L.) Fr. обладают противовоспалительным действием и тонизируют нервную систему, в связи с чем, вид отмечен среди 200 видов базидиомицетов, характеризующихся различными терапевтическими эффектами [5]. Состав летучих метаболитов с чесночным запахом у наиболее изученных видов – *Mycetinis alliaceus* и *M. scorodonius* – характеризуется присутствием фармакологически значимых серусодержащих соединений, образование которых происходит в результате ферментативного раскрытия дипептида  $\gamma$ -глутамил-маразмина, соединения с необычным цистеин-сульфоксидным компонентом [6, 7].



Положительные результаты при исследовании противораковой активности *Marasmius oreades* (Bolton) Fr объясняются способностью низкомолекулярных компонентов блокировать активность фактора некроза опухолей NF-kB [8, 9].

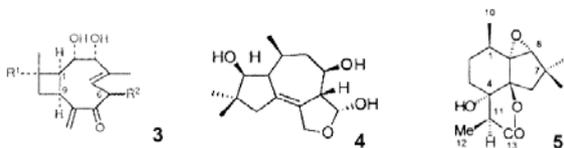
Многие виды базидиомицетов р. *Marasmius* и *Mycetinis* известны как продуценты метаболитов с интересной биологической активностью [10]. Антибиотик маразин (нона-6,8-диен-3,4-диенол) (рис., 1) с высокой активностью против *Staphylococcus aureus* выделен в 60-е гг. прошлого века из культурального фильтрата *Marasmius ramealis* (Bull.) Fr. Биосинтетический путь маразина можно представить от олеиновой кислоты через линолевую и крепениновую кислоты. Позднее система –аллен-диин-была подтверждена в структуре маразина биосинтетически [10, 11].



Скороденин, биоактивный метаболит из *Mycetinis scorodonius*, представляет группу ацетиленовых соединений, встречающихся редко в базидиомицетах, и достаточно часто среди растений Umbeliferae и Compositae [11]. Антибиотик скородонин, известен как ингибитор роста бактерий, дрожжей и несовершенных грибов.

Структура этого вещества была доказана сравнительно недавно спектроскопическими и химическими данными как редко встречающийся С7 ацетиленовое соединение (рис., 2) [12–14].

Сесквитерпеноиды – С15- терпеноиды, содержащие три изопреновые единицы, встречаются во многих грибах и растениях. Они

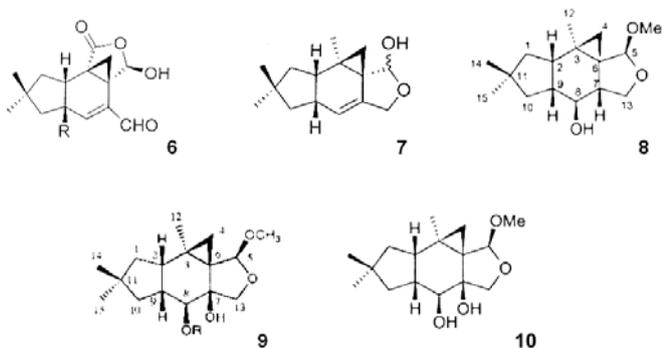


существуют, как правило, в виде лактонов, спиртов, альдегидов и кетонов различных моно-, \_би- и трициклических структур. Сесквитерпеноиды с би- и трициклическими структурами составляют значительную группу антибиотических соединений среди биоактивных метаболитов грибов *Marasmius*. Соединения аллиакол А и В из *M. alliaceus* характеризовались слабой антибактериальной и антифунгальной активностью, но были весьма токсичны [15].

Сесквитерпеноидная природа и структура антибиотиков были установлены в процессе изучения спектральных характеристик соединений и их производных (рис., 5) [16, 17, 18]. При культивировании штамма *Marasmius* sp., из Каледонии был получен дигидрокси-кариофиллен-дион (рис., 3). Вещество обладало структурой близко родственной соединениям нематолину и нематолину В, сесквитерпеноидам, ранее обнаруженным у *Naematoloma fasciculare*, а также некоторых видов *Hypholoma* и *Panus* [19– 21]. Подобные бициклические сесквитерпеноиды, названные тремулинами, были выделены при культивировании *Phellinus tremelae*, а позднее *Phellinus igniarius* [23, 24].

Новый представитель тремулановых структур, кладофиллол (рис., 4), наряду с дримановыми соединениями, был выделен при культивировании китайского штамма *Marasmius cladophyllus* [22]. Все рассмотренные соединения отнесены к сесквитерпеноидам, имеющим в структуре пяти- и семичленное кольца. Большинство сесквитерпеноидов с подобным строением обладают биологической активностью и высокой токсичностью. Они широко распространены также в растительном царстве у таких растений как жасмин, лаванда, можжевельники [24]. Криптопоровые кислоты, сесквитерпеноиды с дримановым типом структуры, характеризуются разнообразным характером проявления биоактивности, включая антикарциногенез, а также предохранение от воспаления и ишемической болезни [25, 26].

Сесквитерпеноиды с маразмановой структурой известны уже свыше полувека. Маразмовая кислота (рис., 6) как вещество с антибактериальной активностью было выделено из *Marasmius*



*conigenus* (Pers.) P. Karst в конце 40-х гг. прошлого столетия. Гидропроизводное маразмовой кислоты обладало антибактериальным, антифунгальным, цитотоксическим и фитотоксическим действием [27, 28]. Окисленное производное маразмовой кислоты – пилатин, выделенное из *Flagelloscypha pilati*, было цитотоксично и ингибировало рост бактерий и грибов.

Трициклическая структура маразмановых сесквитерпеноидов (рис. 7, 8, 9, 10) была подтверждена спектральными данными в процессе изучения соединений, выделенных из плодовых тел *Russula foetens* [29]. Маразмановые антибиотики встречаются также в макромицетах рода *Lactarius*. Токсическое действие маразмановых сесквитерпеноидов связывают с наличием в их структурах лактонного кольца.

К числу наиболее исследованных грибных белков, не обладающих ферментной активностью, относят лектины, гликопротеины, способные к клеточной агглютинации. Плодовые тела многих макромицетов изучены как источники лектинов. Грибные лектины разделяют по их способности агглютинировать человеческие эритроциты согласно группе крови. Агглютинирующая активность экстрактов *Marasmius oreades* была впервые отмечена в 1951 г. [30]. Лектин *M. oreades* обладал редкой способностью агглютинировать эритроциты группы крови типа В. и относился к гетеродимерным белкам. Отечественными исследователями в 1983 г. было получено авторское свидетельство за разработку способа получения фитоагглютинина анти-В на основе коллекционного штамма *M. oreades* [31]. Молекулярная структура лектина – пептидного фрагмента

и углеводных цепочек, была полностью изучена и уточнена [28, 30, 31]. Таким образом, рассмотрение биоактивных метаболитов даже небольшого числа базидиомицетов сем. Marasmiaceae из рода *Marasmius* Fr. и *Mycetinis* Earl. свидетельствует о широких возможностях семейства для проведения направленного поиска и изучения новых биоактивных соединений – антибиотиков, токсинов, полиненасыщенных и серосодержащих соединений для медицинского применения.

В рабочем фонде отечественной Коллекции культур базидиомицетов LE-BIN базидиомицеты pp. *Marasmius* и *Mycetinis* представлены 47 штаммами 13 видов, ещё 19 штаммов идентифицированы до рода. Все штаммы сохраняют на среде сусло-агар и под дистиллированной водой, 19 штаммов поддерживают также методом криоконсервации. Коллекционные штаммы доступны пользователям по запросам [32].

*Автор выражает признательность к.б.н. Н.В. Шаховой за помощь в оформлении работы.*

*Исследование выполнено по Программе фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».*

### Список литературы

1. Antonin V, Noordeloos ME. A monograph of *Marasmius*, *Collybia* and related genera in Europe. I. *Marasmius*, *Setulipes* and *Marasmiellus*. *Libri Botanici*. 1993; 8: 227 p.
2. Antonin V, Noordeloos ME. A monograph of marasmioid and collybioid fungi in Europe. IHW-Verlag. 2010: 158, 395.
3. Wilson AW, Desjardin DE. Phylogenetic relationships in the gymnopoid and marasmioid fungi (Basidiomycetes, eugarics clade). *Mycologia*. 2005; 97(3): 667–79.
4. Dictionary of the Fungi. 10th edn. Kirk PM, Cannon PF, Minner DW, Stalpers JA (eds) 2008. CABI Publ, Wallingford.
5. Wasser SP, Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit Rev Immunol*. 1999; 19: 65–96.
6. Gmelin R, Luxa HH, Roth K, Hofle G. Dipeptide precursor of garlic odour in *Marasmius* species. *Phytochemistry*. 1976; 15: 1717–21.

7. Rapior S, Breheret S, Talou T, Bessiere JM. Volatile flavor constituents of fresh *Marasmius alliaceus* (garlic *Marasmius*). *J Agricult Food Chem*. 1997; 45: 820–25.
8. Petrova RD, Mahajna J, Wasser SP et al. *Marasmius* substances block NF- $\kappa$ B activity through interference with IKK activation pathway. *Mol Biol Repts*. 2009; 36: 737–44.
9. Ruima N, Petrova RD, Agharia R et al. Inhibition of TNF $\alpha$ -induced iNOS expression in HSV-tk transduced 9L glioblastoma cell lines by *Marasmius oreades* substances through NF- $\kappa$ B- and MAPK-dependent mechanisms. *Mol Biol Repts*. 2010; 37: 3810–12.
10. Anke T, Kupka J, Schramm G, Steglich W. Antibiotics from basidiomycetes. X. Scorodonin, a new antibacterial and antifungal metabolite from *Marasmius scorodonius* (Fr.) *Fr J Antibiot*. 1980; 33(5): 463–67.
11. Palma R, Knauseder F. A polyacetylenic antibiotic from *Marasmius alliaceus* (Jacq. ex Fr.) *Fr J Antib*. 1980; 33(12): 1556–59.
12. Davies D, Hodge P. Biosynthesis of the allene (-) marasin in *Marasmius ramealis*. *Org Biomol Chem*. 2005; 39(9): 1680–93.
13. Wim de Graaf, Smith A, Boersma J, van Koten G, Hoekstra WPM. Synthesis of marasin and 9-Me-marasin (Nona- and Deca-6,8-diyne-3,4-dienol). *Tetrahedron*. 1988; 44(21): 6699–704.
14. Jian YJ, Wu Y. Synthesis of the structure proposed for the natural allenic antibiotic scorodonin. *Org Biomol Chem*. 2010; 8(8.): 1905–9.
15. Anke T, Watson WH, Giannetti B. M., Steglich W. Antibiotics from basidiomycetes. XII. The alliacols A and B from *Marasmius alliaceus*. *J Antibiot*. 1981; 34: 1271–77.
16. Farrell IW, Halsall TG, Thaller V., Bradshaw APW., Hanson JR. Structures of some new sesquiterpenoid metabolites of *Marasmius alliaceus*. *J Chem Soc, Perkin Trans. 1*. 1981: 1790–93.
17. Agent AG, Hanson JR, Hitchcock PB, Yeoh BL. 1-a-Hydroxyalliacolide, a sesquiterpenoid metabolite of *Marasmius alliaceus*. X-ray molecular structure of 1-a-hydroxyalliacolide. *J Chem Soc, Perkin Trans*. 1985: 2749–51.
18. King TJ, Farrell IW, Halsall TG, Thaller V. Alliacolid, a new bicyclic sesquiterpene epoxy lactone with a novel carbon skeleton from cultures of the fungus *Marasmius alliaceus* (Jacques ex Fr.) *Fr. X-ray structure*. *J Chem Soc, Chem Commun*. 1977; 20: 727–28.
19. Fabian K, Anke T, Sterner O. 6,9-Dihydroxy-3(15)-caryophyllen-4,8-dione – a new antibiotic from a *Marasmius* species. *Zeitschrift Naturforsch*. 1999; 54: 469–73.
20. Doi K, Shibata T, Nara S et al. Structures of naematilin and naematolin B. IS. 9S-ring fused caryophyllane sesquiterpenoids. *Chem Lett*. 1986: 653–56.

21. Lorensen K, Anke T, Andors U et al. Two inhibitors of platelet aggregation from a *Panus* species (Basidiomycetes). *Zeitschrift Naturforsch.* 1994; 49: 132–38.
22. Meng J, Li Y-Y, Ou Y-X et al. New sesquiterpenes from *Marasmius cladophyllus*. *Mycology.* 2011; 2(1): 30–6.
23. Ayer WA, Cruz ER. The tremulanes a new group of sesquiterpenes from the aspen rotting fungus *Phellinus tremulae*. *J Org Chem* 1993; 53: 7529–34.
24. Wu X, Lin S, Zhu C et al. Homo- and heptanor-sterols and tramulane sesquiterpenes from cultures of *Phellinus igniarius*. *J Nat Prod.* 2010; 73: 1294–1300.
25. Asakawa Y, Hashimoto T, Mizuno Y, Tori M, Fukazawa Y. Criptoporin acids A-G, drimane-type sesquiterpenoid ethers of isocitric acid from fungus *Cryptoporus volvatus*. *Phytochemistry.* 1992; 31: 579–92.
26. Abraham WR. Bioactive sesquiterpenes produced by fungi: are they useful for humans as well? *Curr Medicin Chem.* 2001; 8: 583–606.
27. Wang X-N, Wang F, Du J-C et al. A new marasmane sesquiterpene from the basidiomycete *Russula foetens*. *Zeitschrift Naturforsch B* 2005; 60b: 1065–67.
28. Winter HC, Mostafapour K, Goldstein IJ. The mushroom *Marasmius oreades* lectin is a blood group type B agglutinin that recognizes the Gal $\alpha$ 1,3Gal and Gal $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc porcine xenotransplantation epitopes with high affinity. *J Biol Chem.* 2002; 277(17): 14996–15001.
29. Gavrilova VP, Fedorova LN, Kochetkova GA et al. Strain of cell culture *Marasmius oreades* (Fr.) Fr. - Producer phytohemagglutinin anti-B. 1983. SSSR N1044038 (in Russ.).
30. Loganathan D, Winter HC, Judd WJ et al. Immobilized *Marasmius oreades* agglutinin: use for binding and isolation of glycoproteins containing the xenotransplantation or human type B epitopes. *Glycobiology.* 2003; 13(12): 955–60.
31. Teneberg S, Alsen B, Angstrom J et al. Studies on Gal $\alpha$ 3-binding proteins: comparison of the glycosphingolipid binding specificities of *Marasmius oreades* lectin and *Europaeanus* lectin. *Glycobiology.* 2003; 13(6): 479–86.
32. Psurtseva NV, Kiyashko AA, Gachkova EY, Belova NV, Basidiomycetes culture collection LE (BIN): Catalogue of strains. KMK Scientific Press Ltd. Moscow–St. Petersburg. 2007: 116 p.

## МАКРОМИЦЕТЫ С БИОАКТИВНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ И ГЕНОФОНД ЭТИХ ВИДОВ В КОЛЛЕКЦИИ LE-VIN

*Белова Н. В.*

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург*

Изучение биоразнообразия и ресурсных свойств высших грибов – неразрывно связанные направления микологической науки. Ресурсный потенциал грибов всегда оценивался высоко и во все времена привлекал внимание ученых. Многие макромицеты являются традиционными источниками пищевых продуктов и биологически активных соединений.

К сожалению, в последнее время в отечественной микологической литературе не часто встретишь работы, посвященные изучению химического состава и биологически активных низкомолекулярных соединений высших грибов. За последние 3 г. в ведущем отечественном журнале «Микология и фитопатология» опубликовано лишь одно исследование в этом направлении [1]. По-видимому, это связано с утратой ведущих ученых химической школы, ослаблением интереса к химии природных соединений вообще и дороговизной исследований, требующих не дешевых материалов и оборудования. В то же время в исследованиях по биологическому разнообразию грибов практически всегда подчеркивается биологическая активность грибного организма, часто без объяснения её химической природы. Следует отметить, что за рубежом в последние годы поток исследований химической структуры низкомолекулярных соединений грибов не только не ослабел, но приобрел интернациональный характер. Подтверждением этого служит исследование, выполненное группой ученых из Китая, Таиланда, Франции, Германии и Малайзии.

В работе обобщены данные по изучению низкомолекулярных соединений из высших грибов за последние десять лет [2]. Авторы приводят химические структуры и характер биологической активности по таким направлениям, как антиокислительная, противоопухолевая, противовирусная, противомаларийная, против болезни Альцгеймера, гипохолестеринемическая и антидиабетическая для более 130 низкомолекулярных соединений из плодовых тел и мицелия макромицетов. Не меньший интерес представляет работа японских исследователей, подведшая итоги пятнадцатилетних исследований тритерпеноидов и стеролов высших грибов [3].

В настоящей работе на основе новейших данных сформирован список макромицетов, который включает более 75 видов, содержащих биоактивные низкомолекулярные соединения, и оценен генофонд этих видов, поддерживаемый в рабочем фонде отечественной Коллекции культур LE-BIN [4].

Таблица. Макромицеты, содержащие медицински значимые низкомолекулярные соединения, в Коллекции LE-BIN [1, 2].

Виды	Количество штаммов в Коллекции LE-BIN
<i>Agaricus</i> sp.	17
<i>Agaricus bisporus</i> (J.E. Lange) Imbach	1
<a href="#"><u><i>Agaricus sylvaticus</i> Schaeff.</u></a>	1
<i>Agrocybe</i> sp.	22
<a href="#"><u><i>Agrocybe salicaceicola</i> Zhu L. Yang, M. Zang &amp; X.X. Liu, Sheng H. Wu, Ryvardeen &amp; T.T. Chang</u></a>	-
<i>Albatrellus flettii</i> Morse ex Pouzar	-
<i>Amanita virgineoides</i> Bas	
<i>Antrodia</i> sp.	6
<a href="#"><u><i>Antrodia camphorata</i> (M. Zang &amp; C.H. Su)</u></a>	-
<i>Armillaria</i> sp.	19
<i>Armillaria mellea</i> (Vahl) P. Kumm.	7
<i>Astraeus odoratus</i> Phosri, Watling, M.P. Martín & Whalley	-
<i>Astraeus pteridis</i> (Shear) Zelle	-
<i>Auricularia</i> sp.	8
<i>Auricularia auricula-judae</i> (Bull.) Quél.	3
<i>Clitopilus</i> sp.	4
<i>Clitopilus passeckerianus</i> (Pilát) Singer	-
<i>Coprinellus micaceus</i> (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	

<i>Coprinellus radians</i> (Desm.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson	
<i>Coprinus</i> sp.	59
<i>Cyathus</i> sp.	21
<i>Cyathus stercoreus</i> (Schwein.) De Toni	1
<i>Daedaleopsis</i> sp.	16
<i>Daedaleopsis confragosa</i> (Bolton) J. Schröt.	12
<i>Datronia</i> sp.	4
<i>Datronia mollis</i> (Sommerf.) Donk	3
<i>Flammulina</i> sp.	50
<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	26
<i>Fomitopsis</i> sp.	28
<i>Fomitopsis officinalis</i> (Vill.) Bondartsev & Singer = <i>Laricifomes officinalis</i> (Vill.) Kotl. & Pouzar	-
<i>Fomitopsis nigrescens</i> (Bres.) Bondartsev & Singer = <i>Datronia scutellata</i> (Schwein.) Gilb. & Ryvarden	-
<i>Fomitopsis pinicola</i> (Sw.) P. Karst.	18
<i>Fomitopsis rosea</i> (Alb. & Schwein.) P. Karst.	4
<i>Ganoderma</i> sp.	45
<i>Ganoderma colossus</i> (Fr.) C.F. Baker	-
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	19
<i>Ganoderma lucidum</i> FYGI	
<i>Ganoderma orbiforme</i> (Fr.) Ryvarden	-
<i>Ganoderma pfeifferi</i> Bres.	-
<i>Ganoderma resinaceum</i> Boud. = <i>Ganoderma praelongum</i> Murrill.	-
<i>Ganoderma sinense</i> J.D. Zhao, L.W. Hsu & X.Q. Zhang	-
<i>Ganoderma zonatum</i> Murrill	-
<i>Grifola frondosa</i> (Dicks.) Gray	
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.) Pers.	
<i>Hymenochaete</i> sp.	6

<i>Hymenochaete xerantica</i> (Berk.) S.H. He & Y.C. Dai = <i>Inonotus xeranticus</i> (Berk.) Imazeki & Aoshima	-
<i>Hypholoma</i> sp.	22
<i>Hypholoma lateritium</i> (Schaeff.) P. Kumm = <i>Naematoloma sublateritium</i> (Schaeff.) P. Karst.	
<i>Hypsizygus</i> sp.	8
<i>Hypsizygus marmoreus</i> (Peck) H.E. Bigelow	1
<i>Inonotus</i> sp.	19
<i>Inonotus obliquus</i> (Ach. ex Pers.) Pilát	5
<i>Ischnoderma</i> sp.	6
<i>Ischnoderma benzoinum</i> (Wahlenb.) P. Karst.	4
<i>Jahnporus hirtus</i> (Cooke) Nuss	-
<i>Lactarius piperatus</i> (L.) Pers.	
<i>Laetiporus</i> sp.	10
<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler, = <i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	17
<i>Lenzites</i> sp.	9
<i>Lenzites betulina</i> (L.) Fr.	4
<i>Leucopaxillus</i> sp.	1
<i>Leucopaxillus albissimus</i> (Peck) Singer	-
<i>Lyophyllum connatum</i> (Schumach.) Singer	
<i>Mycoacia uda</i> (Fr.) Donk	
<i>Neonothopanus nambi</i> (Speg.) R.H. Petersen & Krisai	1
<i>Omphalia lapidescens</i> (Horan.) E. Cohn & J. Schröt	4
<i>Omphalotus</i> sp.	
<i>Omphalotus illudens</i> (Schwein.) Bresinsky & Besl	-
<i>Omphalotus olearius</i> (DC.) Singer	4
<i>Panellus serotinus</i> (Pers.) Kühner	
<i>Phellinus</i> sp.	45
<i>Phellinus linteus</i> (Berk. & M.A. Curtis) Teng, Chen & S. Cheng	-

<i>Phellinus merrillii</i> (Murrill) Ryvarden	-
<i>Phylloporia ribis</i> (Schumach.) Ryvarden = <i>Phellinus ribis</i> (Schumach.) Quél.	2
<i>Pholiota nameko</i> (T. Itô) S. Ito & S. Imai.	
<i>Pleurotus</i> sp.	117
<i>Pleurotus citrinopileatus</i> Singer	5
<i>Pleurotus cystidiosus</i> O.K. Mill., = <i>Pleurotus abalonus</i> Y.H. Han, K.M.	2
<i>Pleurotus eryngii</i> (DC.) Quél.	
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	74
<i>Pleurotus pulmonarius</i> (Fr.) Quél.	46
<i>Polyporus umbellatus</i> (Pers.) Fr.	
<i>Ramaria</i> sp.	5
<i>Ramaria cystidiophora</i> (Kauffman) Corner	-
<i>Russula delica</i> Fr.	
<i>Russula paludosa</i> Britzelm.	-
<i>Russula sanguinea</i> Fr.	
<i>Sarcodon imbricatus</i> (L.) P. Karst.	-
<i>Sarcodon scabrosus</i> (Fr.) P. Karst.	
<i>Trametes</i> sp.	93
<i>Trametes gibbosa</i> (Pers.) Fr.	8
<i>Trametes speciosa</i> (Fr.) Zmitr., Wasser & Ezhov = <i>Hexagonia speciosa</i> Fr.	-,
<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd,	13
<i>Tremella aurantialba</i> Bandoni & M. Zang	-
<i>Tricholoma matsutake</i> (S. Ito & S. Imai) Singer	
<i>Tricholoma portentosum</i> (Fr.) Quél.	
<i>Wolfiporia extensa</i> (Peck) Ginns	-
<i>Xylaria</i> sp.	3
<i>Xylaria intracolorata</i> (J.D. Rogers, Callan & Samuels) J.D. Rogers & Y.M. Ju	-

*Исследование выполнено по Программе фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий».*

### **Список литературы**

1. Курашев Е.А., Ананьева Е.П., Крылова Ю.В. Компонентный состав низкомолекулярных органических веществ мицелия грибов *Trametes pubescens* и *Flammulina velutipes*. Микология и фитопатол. 2012; 46(2): 145–52.
2. De Silva DD, Rapior S, Sudarman E et al. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry. *Fungal Diversity*. 2013: 1-40.
3. Yaoita Y, Kikuchi M, Machida K, Terpenoids and sterols from mushrooms. In: "Studies in Natural Products Chemistry." Ed. Atta-ur-Rahman FRS. Elsevier B.V. 2015; 44: 1-29.
4. Psurtseva NV, Kiyashko AA, Gachkova EY, Belova NV., Basidiomycetes culture collection LE (BIN): Catalogue of strains. KMK Scientific Press Ltd. Moscow–St. Petersburg. 2007: 116 p.

## МИКРОМИЦЕТЫ – ИСТОЧНИК АНТИОКСИДАНТОВ

Бибикова М.В., Готовцева В.Ю., Спиридонова И.А.

«ООО» ВИОРИН

Окисленные липиды, обладая антигенными свойствами, запускают аутоиммунные процессы повреждения тканей. Для живых клеток наибольшую опасность представляет цепное перекисное окисление липидов (ПОЛ) оказывающее мощное повреждающее действие на клетку. Увеличенное количество свободных радикалов и реакции с их участием в крови и тканях является одной из причин возникновения атеросклероза, астмы, артрита, болезней Альцгеймера и Паркинсона и др.

Известна положительная корреляция между содержанием продуктов ПОЛ в ЛПНП (липопротеидах низкой плотности) и площадью поражения коронарных сосудов. Проведен скрининг природных соединений среди микромицетов, способных снижать уровень ЛПНП у кроликов с искусственной гиперлипидемией. Отобраны микромицеты *Lecanicillium* sp., *Acremonium* sp.25, *Beauveria feline* 7.

Была проведена оценка антиоксидантной активности (АОА) комплексных препаратов и отдельных фракций экстрактов из мицелия штаммов №16 и №7. Препараты не проявляли АОА в гидрофильных условиях. Методом, основанным на подавлении ПОЛ, выявлена высокая АОА: в дозе 25 мкг/мл препарат №16 подавлял АОА на 30%, а комплекс №7 в той же концентрации – на 46%.

Разделение исследуемых комплексов позволило отобрать фракции с АОА, соответствующей 47 – 95%. Контрольный препарат  $\alpha$ -токоферол подавлял ПОЛ на 78% в концентрации 500 мкг/мл.

Наиболее активные фракции препаратов №16 и №7, по данным УФ- спектра, оказались пептидами. При идентификации активного начала методом тандемной масс-спектрометрии с ионизацией в электроспрее были получены спектры, расшифровка которых показала, что эти фракции состоит из циклических депсипептидов с молекулярными массами: 329; 359,1; 376,1; 438,3; 457,2; 488,2; 505,2; 784,7. Массовые спектральные образцы фрагментации ионов  $[M + H]^+$  показали диагностические фрагменты для баверилидов I, VI и бавериолидов F, M, P, R, Q, S, E и L. По литературным данным, эти циклические депсипептиды, проявляют высокий гипополипидемический эффект, а баверилид 1 оказался наиболее сильными ингибитором формирования липидных частиц в мышинных макрофагах.

## ПРОТЕИНАЗЫ МИКРОМИЦЕТОВ С АКТИВНОСТЯМИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ЧЕЛОВЕКА

Бобровская А.А., Осмоловский А.А., Звонарева Е.С.,  
Крейер В.Г., Кураков А.В.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Протеиназы системы гемостаза получают, выделяя непосредственно из плазмы или рекомбинантным путем [1]. Зачастую такие ферментные препараты дороги и поэтому актуален поиск новых ферментов, обладающих близкими активностями и субстратной специфичностью. Одними из источников подобных ферментов являются мицелиальные грибы.

Внеклеточные протеолитические ферменты грибов могут быть широко использованы для различных целей, в том числе и медицинских [2]. В частности, показано, что некоторые микромицеты способны секретировать протеазы, сходные по своим активностям с ферментами системы гемостаза человека [2 – 5].

Проведен скрининг с целью поиска продуцентов протеиназ с выраженными активностями ферментов системы гемостаза человека. Для этого отобранные культуры микромицетов выращивали в условиях глубинного культивирования на орбитальных качалках (200 об/мин, 28 °С) сначала на среде с суслом, глюкозой и пептоном в течение 2-х сут, после чего часть биомассы переносили на ферментационную среду состава (в %): глюкоза – 3, глицерин – 7, гидролизат рыбной муки – 0,5, NaNO<sub>3</sub> – 0,2, MgSO<sub>4</sub> – 0,1.

Активность определяли в фильтрате культуральной жидкости на 4-е сутки культивирования с помощью хромогенных пептидных субстратов протеиназ системы гемостаза [3]. Использовали следующие хромогенные субстраты: субстрат плазмينا (H-D-Val-Leu-Lys-pNA), субстрат тромбина (Tos-Gly-Pro-Arg-pNA), субстрат тканевого активатора плазминогена (H-D-Ile-Pro-Arg-pNA), субстрат активированного протеина С (pyroGly-Pro-Arg-pNA), субстрат урокиназы (pyroGly-Gly-Arg-pNA), субстрат Ха фактора (D-Arg-Gly-Arg-pNA). Скрининг проводили среди ранее отобранных культур *Aspergillus sclerotiorum*, *A. nidulans*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus* и *Tolyposcladium inflatum* k1 (табл).

Как видно из таблицы, все изученные микромицеты секретируют протеиназы, расщепляющие хромогенные субстраты белков

Таблица. Активность протеиназ, секретируемых исследуемыми микромицетами с некоторыми хромогенными субстратами

Субстрат	Активность с субстратами, Е/мл $\times 10^{-3}$				
	A. <i>sclerotiorum</i>	A. <i>nidulans</i>	B. <i>bassiana</i>	T. <i>inflatum</i> k1	P. <i>lilacinus</i>
Tos-Gly-Pro-Arg-pNA	0,55	2,81	2,15	2,00	7,31
pyroGly-Gly-Arg-pNA	0,23	0,26	1,83	1,48	2,10
H-D-Ile-Pro-Arg-pNA	2,00	1,60	3,10	2,61	18,42
D-Arg-Gly-Arg-pNA	0,58	2,80	1,83	1,57	5,77
pyroGly-Pro-Arg-pNA	1,85	3,10	0,58	0,67	21,11
H-D-Val-Leu-Lys-pNA	1,77	2,41	2,35	0,96	5,63

системы гемостаза. Наибольшие значения активности проявил микромицет *Paecilomyces lilacinus*. Секретируемые этой культурой протеиназы обладают существенно большей активностью по отношению к субстратам активированного протеина С, тканевого активатора плазминогена и тромбина, по сравнению с протеиназами других исследованных культур. Эти активности для внеклеточных протеолитических ферментов *P. lilacinus* были показаны впервые.

Внеклеточные протеиназы *P. lilacinus* проявили выраженную активность с субстратами активированного протеина С и тканевого активатора плазминогена (21,11 и 18,42 Е/мл  $\times 10^{-3}$  соответственно). По-видимому, нахождение аргинина и пролина в 1- и 2-м положении влияют на активность протеиназ продуцента. Ввиду больших значений этих активностей весьма перспективным представляется изучение протеолитических ферментов *P. lilacinus* в качестве перспективных лекарственных препаратов. Поскольку активированный протеин С (АРС) используется при лечении сепсиса и обладает противовоспалительным и противоапоптогическим действием, а тканевые активаторы плазминогена применяются как тромболитические препараты [1], то использование протеиназ *P. lilacinus* с подобной этим белкам активностью может сделать их заменителями в соответствующих медицинских препаратах.

В связи с возможностью практического использования протеиназ *P. lilacinus* в медицине требуется более детальное изучение этих ферментов, а так же оптимизация условий культивирования продуцента.

### Список литературы

1. Craik ChS, Page MJ, Madison EL. Proteases as therapeutics. *Biochem J.* 2011; 435: 1-6.
2. Maria de Lourdes TM. Polizeli, Mahendra Rai. *Fungal enzymes*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2013: 464 p.
3. Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г. и др. Воздействие внеклеточных протеаз микромицетов рода *Aspergillus* на белки системы гемостаза человека. *Биоорг. хим.* 2014; 40(6): 688-94.
4. Андреев Г.В., Максимова Р.А., Серебрякова Т.Н. и др. Изучение тромболитического действия триазы из *Trichotecium roseum* в опытах на собаках. *Вестн. Моск. унив.* 2001. Сер. 16 Биол.; 2: 13-9.
5. Цыманович С.А., Никандров В.Н., Максимова Р.А. и др. Физико-химические свойства тромболитического препарата лонголитина. *Вопр. мед. химии*, 1992. 38: 44-5.

## ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭНТЕРАЛЬНОГО И ПАРЭНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИЗ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА ВЕСЕЛКА ОБЫКНОВЕННАЯ

Филиппова И.А.

Центр фунготерапии Ирины Филипповой, Санкт-Петербург

Биологически активные вещества широко применяются в ветеринарии в качестве разноплановых эффекторов, корректирующих патологические состояния организма; повышающие рост и развитие животных, эффективность химиотерапевтических средств, иммунизации, а также используются в качестве альтернативы кормовым антибиотикам [1].

При выращивании животных на них действуют различные экстремальные факторы объективного и субъективного характера, вызывающие стрессы, отрицательно влияющие на рост и развитие животных. НПО «Биолюкс» совместно с кафедрой фармакологии и токсикологии ФГОУ ВПО «СПбГАВМ» разработало специальную программу по внедрению БАВ из высших грибов в ветеринарию. Проводятся исследования ростостимулирующих, иммуностимулирующих, гериатрических, гепатопротекторных, ранозаживляющих и других фармакологических свойств БАВ веселки обыкновенной и других высших грибов.

В ходе исследования полисахаридной фракции базидиомицета *Phallus impudicus* (веселка обыкновенная) были поставлены следующие задачи: усовершенствовать регламент получения полисахаридной фракции из базидиомицета *Phallus impudicus*; изучить фармако-токсикологические особенности полисахаридной фракции базидиомицета *Ph. impudicus*; определить эффективность препаратов из базидиомицета *Ph. impudicus* при лечении сельскохозяйственных животных. В результате фармако-токсикологических исследований, выявили, что веселка обыкновенная не токсична, не обладает раздражающим и алергизирующим действием, проявляет иммуностропное, антистрессовое (адаптогенное), ранозаживляющее и ростостимулирующие действие. Эти позитивные фармакологические свойства препаратов из гриба веселка указывают на перспективность его использования в создании лекарственных форм для энтерального и парентерального введения.

По оценкам практикующих ветеринарных врачей, парентеральный метод введения лекарственных форм наиболее популярен и

имеет ряд неоспоримых преимуществ. В процессе исследования разработана технология и получена инъекционная лекарственная форма из гриба веселка обыкновенная и начато детальное изучение ее фармакологических свойств на лабораторных и домашних животных.

Подобная инъекционная форма особенно необходима для дальнейшего клинического испытания и применения в ветеринарной практике. Необходимость использования БАВ высших грибов диктуется двумя проблемами, как в медицине [2], так и в ветеринарии – снижением эффективности и повышением побочных действий лекарств и непосредственно касающаяся ветеринарии, третья проблема – снижение качества животноводческой продукции и ее опасность для здоровья людей (в связи с присутствием остаточных количеств лекарственных веществ и их метаболитов, и, прежде всего, антибиотиков в этих продуктах). Именно по этой причине и были объединены усилия специалистов Центра фунготерапии с учеными Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины. В настоящее время ведется работа по стандартизации производства ампульных форм препарата из полисахаридов веселки обыкновенной.

### Список литературы

1. Соколов В.Д., Андреева Н.Л. Новые биологически активные вещества. Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки». Экспресс-информация. СПб. 2009; 20: 3-4.
2. Бабаянц О.В., Бушлян М.А., Залогина М.А. *Phallus Impudicus L.*: Перспективы использования в медицине. Успехи медицинской микологии. 2005; 5: 240-41.

## АКТИВАЦИЯ Т-ИММУНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСТРАКТОВ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ ШИИТАКЕ (*LENTINULA EDODES*), ЭКСПОНИРОВАННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМАХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Ильинских Н.Н.<sup>1,2</sup>, Ильинских Е.Н.<sup>1,3</sup>, Глухова Л.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск

<sup>2</sup>Томский государственный университет

<sup>3</sup>Томский политехнический университет

Известно, что экстракты из грибов *Lentinula edodes* обладают выраженной Т-иммуностимулирующей активностью и применяются в клинической практике США и Японии, начиная с 1986 г. [1]. Иммуностимуляция Т-лимфоцитов морфологически проявляется бласттрансформацией клеток, которые вступают в стадию синтеза ДНК и резко увеличиваются в размерах [2]. В условиях *in vitro* Т-лимфоциты человека чрезвычайно редко спонтанно образуют бластные клетки. В связи с чем нами предпринято изучение бласттрансформирующей активности экстрактов мицелия грибов шиитаке, выращенных при различных световых режимах в экспериментах на культурах Т-лимфоцитов человека, что в конечном итоге преследует цель, как повышение продуктивности грибов, так и для усиления Т-иммуностимулирующей активности экстрактов, полученных из грибов выращенных в различных световых условиях, что может иметь несомненную практическую и научную значимость.

**Материал и методы исследования.** Мицелий грибов *L. edodes* выращивали в отсутствии видимого света или при освещении с использованием люминесцентных ламп (Philips, 36 Вт) следующих участков спектра: красного ( $\lambda_{\max}=660$  нм), зеленого ( $\lambda_{\max}=540$  нм) и синего ( $\lambda_{\max}=430$  нм) при интенсивности светового потока равном 1,70 Вт/м<sup>2</sup>.

Из мицелия грибов *L. edodes*, выращенных при различных световых режимах, получен экстракт, который стерилизовали, пропуская через миллиметровый фильтр с диаметром пор равным 3 мкм. Концентрация сухого вещества в 1 мл экстракта составила 20 мг.

Культуры лимфоцитов периферической крови, полученные от здоровых доноров, инкубировали с добавлением лектина фасоли – фитогемагглютинаина (фирма ПанЭко, Москва), стандартного

препарата вызывающего бласттрансформацию Т-лимфоцитов, или экстрактов мицелия грибов *L. edodes* в дозе 0,1 мл на 1 мл культуральной среды RPMI с последующей инкубацией на протяжении 48 и 72 часов в стандартных условиях [3]. Подготовку изображения Т-лимфоцитов и анализ проводили с использованием программы Image J, разработанной Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA по методике изложенной нами ранее [4].

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0, BIOSYS-2, Microsoft Access, BIOSTAT (Primer of Biostatistic version 4.03). Все количественные показатели исследования обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова не выявило отличий от нормального. Анализ статистических различий качественных признаков производили с использованием теста  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность. Различия сравниваемых результатов ( $X_m$ , где  $X$  – выборочное среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и обсуждение.** Полученные данные свидетельствуют, что экстракты из мицелия грибов шиитаке, независимо от способа выращивания гриба обладают способностью к стимуляции процесса бласттрансформации, при этом Т-лимфоциты, находящиеся в крови человека на стадии G0, вступают в условиях культуры в предсинтетическую (G1) и далее синтетическую стадию интерфазы. В то же время имеются ряд существенных отличий в бласттрансформирующем действии лектина фитогемагглютинаина (ФГА) и экстрактов мицелия гриба. Если ФГА уже через 48 часов культивирования индуцировал появление существенного числа бласттрансформированных Т-лимфоцитов, то экстракты таким действием не обладали.

Эффект бласттрансформации под влиянием экстрактов наблюдался только через 72 ч культивирования Т-лимфоцитов, кроме того экстракты полученные из мицелия грибов выращенных в различном световом режиме обладают не одинаковой способностью к бласттрансформации. Наибольшую активность проявляет экстракт мицелия, выращенный с использованием синей части спектра. Экстракты, полученные из мицелия грибов, выращенных в красной или зеленой части спектра, по сравнению с экстрактами из мицелия грибов выращенных в темноте, также обладают повышенной способностью индуцировать бласттрансформацию Т-лимфоцитов, но

в меньшей степени, чем экстракты мицелия грибов выращенных в синей части спектра.

Размеры площади бластных клеток различны в зависимости от режима культивирования Т-лимфоцитов. Бластные клетки, возникшие спонтанно, имеют существенно большую площадь, чем при введении стимуляторов. При продолжительности культивирования 48 часов различий в размерах между клетками после воздействия экстрактами не наблюдалось. В то же время введение ФГА существенно увеличивало количество клеток с большой площадью. Через 72 ч от начала культивирования при введении экстрактов отмечается резкое увеличение площади бластных клеток. Этот процесс особенно хорошо был выражен при воздействии экстрактами, полученными из мицелия грибов выращенных в красных и зеленых частях спектра света. Корреляционный анализ свидетельствует, что между показателями бласттрансформации и площади бластных клеток имеет место статистически значимая обратно пропорциональная зависимость ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,01$ ). Это является подтверждением ранее высказанного вывода о том, что в слабо пролиферирующих культурах размеры клеток существенно больше [4], а активация митотических процессов приводит к появлению субпопуляции мелких клеток.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отличиях в бласттрансформирующей реакции лектина ФГА и экстрактов мицелия гриба шиитаке. Это позволяет предположить, что экстракты вызывают бласттрансформацию иной, чем ФГА, субпопуляции Т-лимфоцитов. Известно, что ФГА реагирует с моносахаридом, содержащим N-ацетилгалактозамин и является стимулятором бласттрансформации популяции Т-лимфоцитов хелперов ( $CD4^+$ ) [4], их количество в периферической крови человека составляет 55–60% от общего числа Т-лимфоцитов и естественно число бласттрансформированных под влиянием ФГА Т-хелперов в норме не может превышать, за немногим исключением, этот показатель. Другая большая субпопуляция Т-лимфоцитов в крови человека, это лимфоциты  $CD8^+$ , которые названы также Т-лимфоцитами-киллерами/супрессорами и их содержание в периферической крови составляет 20–30%.

Исходя из количества бласттрансформированных под влиянием экстрактов клеток, мы предполагаем, что экстракты вызывают бласттрансформацию именно этой субпопуляции. Показано, что данные клетки способны обнаруживать и устранять мутантно измененные и потенциально раковые клетки [4]. Антимутагенная

активность экстрактов грибов шиитаке показанная нами ранее является одним из доказательств данного предположения. Кроме того, имеются и прямые доказательства способности экстрактов мицелия шиитаке стимулировать в условиях организма лимфоциты-киллеры [4], и мы полагаем, что именно это свойство экстрактов может способствовать устранению из культуры генетически дефектных клеток.

**Заключение.** Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что экстракты из мицелия грибов шиитаке (*Lentinula edodes*), выращенных при различных световых режимах, способны оказывать бласттрансформирующий эффект в культурах Т-лимфоцитов здорового человека. Установлено, что экстракты полученные из мицелия грибов выращенных при синем спектре света более активно стимулируют бласттрансформацию Т-лимфоцитов, чем экстракты полученные из мицелия грибов культивируемых в условиях отсутствия видимого света, или при облучении зеленой или красной частью спектра. Отмечена также обратно пропорциональная корреляционная зависимость между показателями бласттрансформации и размерами Т-лимфоцитов в условиях их стимуляции экстрактами или лектином растений – фитогемагглютинином.

### Список литературы

1. Новиков В.И., Карандашов В.И., Сидорович И.Г. Имунотерапия при злокачественных новообразованиях. М.: Медицина. 1999: 136 с.
2. Fujita T, Matsushita M, Endo Y. The lectin-complement pathway – its role in innate immunity and evolution. *Immunol Rev.* 2004; 198(2): 185-202.
3. Moorhead PS, Novel PC, Mellman WJ et all. Chromosome preparations of leukocyte cultured from human peripheral blood. *Exptl Cell Res.* 1960; 20: 613-16.
4. Ilyinskikh N, Ilyinskikh I, Ilyinskikh E. Infectious mutagenesis (Cytogenetic effects in human and animal cells as well as immunoreactivity induced by viruses, bacteria and helminthes). Saarbrücken: Lambert Acad. Publish. 2012: 216 с.

## АНТИМУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ ШИИТАКЕ (*LENTINULA EDODES*) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АДРИАМИЦИНА НА КУЛЬТУРУ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

*Ильинских Н.Н.<sup>1,2</sup>, Ильинских Е.Н., Глухова Л.Б.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Сибирский государственный медицинский университет, Томск*

<sup>2</sup>*Томский государственный университет*

<sup>3</sup>*Томский политехнический университет*

Практически все известные в настоящее время цитостатики даже в терапевтических дозах оказывают угнетающий эффект на гемопоэз, что вынуждает клиницистов осуществлять химиотерапию онкологических больных при постоянном контроле картины крови и в случае необходимости прерывать лечение [1].

Особое значение в указанном аспекте имеет исследование механизмов повреждающего действия цитостатиков на генетические структуры гемопоэтических клеток нормального (не пораженного опухолью) костного мозга, поскольку известно, что большинство используемых в клинике цитостатических лекарств обладают выраженным цитогенетическим эффектом, который во многом и определяет токсическое действие этих препаратов на нормальные органы и ткани организма [1].

Адриамицин активен при лечении 18 форм злокачественных опухолей: лимфосаркомы, ретикулосаркомы, лимфогранулематоза, острых лейкозов, рака молочной железы, рака легкого, злокачественных опухолей яичника, сарком мягких тканей и некоторых костных сарком, нейробластомы и опухоли Вильмса у детей, в отдельных случаях при раке щитовидной железы и переходно-клеточном раке мочевого пузыря и др. [2].

Имеются сведения о том, что потребление гриба шиитаке снижает артериальное давление, уровень холестерина в крови, развитие сердечно-сосудистых заболеваний и возникновение раковых трансформаций клеток [3]. Его также стали использовать для предотвращения развития метастазов после хирургических операций раковых опухолей [4]. Экстракты из этого гриба в экспериментах на бактериях не обладали мутагенной активностью [5]. При этом Лима с соавт. [6] установили, что экстракты из гриба обладают антимута-

генной активностью при воздействии на эукариотические клетки мутагенов циклофосамида и N-этил-N-нитрозомочевины [6].

**Цель работы** – изучение в условиях *in vitro* цитогенетических последствий воздействия на Т- лимфоциты человека противоопухолевого препарата адриамицина на фоне введения в культуры экстрактов мицелия гриба шиитаке.

**Материал и методики исследования.** Из мицелия гриба *L. edodes* был получен экстракт, который стерилизовали, пропуская через миллипоровый фильтр с диаметром пор 3 мкм. Концентрация сухого вещества в 1 мл экстракта составила 20 мг. В культуры лимфоцитов периферической крови, полученные от здоровых доноров, вводили экстракты гриба шиитаке в дозе 0,1 мл на 1 мл культуральной среды RPMI и инкубировали на протяжении 72 ч в стандартных условиях [7]. На 72-м часу культивирования Т-лимфоциты фиксировали и готовили стандартные препараты по ранее описанному методу с анализом кариопатологических изменений интерфазного ядра и делящихся Т-лимфоцитов [8].

Измерены площади ядер Т-лимфоцитов по методу, описанному в [9], с использованием компьютерной программы ImageJ, разработанной Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA, и микроскопа фирмы «Zeiss Jena», оборудованного видеокамерой, а также проведен анализ бласттрансформации и митотической активности культур клеток.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0, BIOSYS-2, Microsoft Access, BIOSTAT (Primer of Biostatistic version 4.03). Все количественные показатели исследования обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента для независимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова – Смирнова не выявило отличий от нормального. Анализ статистических различий качественных признаков производили с использованием теста  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность [10].

Различия сравниваемых результатов ( $X \pm m$ , где  $X$  – выборочное среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего арифметического) считались статистически значимыми уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и обсуждение.** Для интактных культур Т-лимфоцитов было характерно то, что подавляющее большинство клеток (около 90%) имеет округлое ядро (круглое, овальное или бобовидное). Анализ морфологических изменений ядер Т-лимфоцитов под влиянием введения адриамицина свидетельствует об изменениях отдельных классов клеток по этому

показателю. На фоне снижения числа клеток с округлым ядром существенно возрастают патологические изменения морфологии ядер отдельных клеток: с протрузиями, микроядрами и деструктивными изменениями, приводящими к гибели клетки, такими как кариорексис, кариопикноз и кариолизис (во всех случаях  $p < 0,01$ ).

Наряду с этим отмечено также увеличение числа двуядерных клеток. Экстракты шиитаке не вызывали появления патологических изменений ядер, но достоверно увеличивали в культуре число клеток с бобовидным ядром, при этом снижалось количество клеток с овальным ядром (в обоих случаях  $p < 0,05$ ). Добавление в культуры адриамицина на фоне введения экстракта мицелия гриба существенно снижает, по сравнению с культурами, где был введен адриамицин без предварительного воздействия экстрактами, число клеток с патологиями ядра. Кроме того, снижается до интактного уровня количество клеток с микроядрами, а также с кариопикнозом и кариорексисом, при этом повышенным остается число двуядерных клеток и клеток с единичными протрузиями ядер и кариолизисом. Анализ патологий деления при воздействии адриамицином показал, что более 40% изученных митозов имеют патологические изменения.

Чаще всего наблюдались метафазы с отставаниями отдельных хромосом, а также многогрупповые метафазы. Среди патологических ана-телофаз преобладали клетки с отставаниями хромосом и мостами. Увеличения числа клеток с колхициноподобными митозами (К-митозами) не отмечено. Если адриамицин существенно снижает митотическую активность культур клеток, подавляя бласттрансформацию Т-лимфоцитов, то экстракты гриба шиитаке при введении в культуры более чем в 2 раза усиливают митотическую активность этих клеток, при этом достоверно увеличивая в культурах и процессы бласттрансформации Т-лимфоцитов.

Установлено, что адриамицин индуцировал снижение общей площади культивируемых клеток, при этом экстракты шиитаке, наоборот, способствовали резкому возрастанию числа крупных клеток, площадь которых достигает более 100 мкм<sup>2</sup>.

Антимутагенные эффекты экстрактов мицелия шиитаке могут быть связаны с влиянием на следующие процессы в культурах Т-лимфоцитов:

- 1) стимуляция ДНК-репаративных процессов;
- 2) инактивирование мутагенных потенциалов адриамицина;
- 3) защита цитогенетических структур клетки от мутагенного действия адриамицина;

- 4) стимуляция апоптотических процессов;
- 5) активация лимфоцитов-киллеров по устранению генетически дефектных клеток [11].

Известно, что механизм противоопухолевого действия адриамицина связан с индуцированием в клетках свободных радикалов, что вызывает поражение ДНК на стадиях S и G2 [1, 8]. Наличие анаелофаз с мостами свидетельствует о способности адриамицина к перестройкам с формированием дицентрических хромосом.

Известна способность экстрактов шиитаке стимулировать лимфоциты-киллеры [12], что может способствовать устранению из культуры генетически дефектных клеток [11].

Появление после совместного воздействия экстрактов и адриамицина клеток с кариорексисом и кариопикнозом, по-видимому, свидетельствует в пользу этой гипотезы, а наблюдаемое повышение числа клеток с кариолизисом можно объяснить активацией апоптотических процессов под влиянием компонентов экстрактов грибов шиитаке в условиях культуры клеток.

**Заключение.** Данные свидетельствуют, что в культурах Т-лимфоцитов, полученных от здоровых доноров, адриамицин способен индуцировать разнообразные цитологические и цитогенетические изменения. Некоторые из них, такие как отставание хромосом, формирование микроядер способствуют утрате части цитогенетического материала, а кариорексис, кариопикноз и кариолизис – гибели измененных клеток. Адриамицин на фоне предварительного введения экстрактов шиитаке вызывает существенно меньшие цитопатический и цитогенетический эффекты, что свидетельствует о протективном действии некоторых компонентов гриба.

### Список литературы

1. Новицкий В.В., Переверзева Э.Р., Пономарков В.И. и др. Экспериментально клинические аспекты некоторых токсических эффектов противоопухолевых препаратов. М.: Изд-во ВНИИ-МИ, 1987. Сер. Онкология. Вып. 2. 69 с.
2. Переводчикова Н.И. Клиническая химиотерапия опухолевых заболеваний. М.: Медицина, 1976. 200 с.
3. Wasser SP, Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. Crit. Rev. Immunol. 1999; 19, № 1. P. 65-96.
3. Новиков В.И., Карандашов В.И., Сидорович И.Г. Иммунотерапия при злокачественных новообразованиях. М.: Медицина, 1999. 136 с.

4. Gruter A, Friederich U, Wurgler FE. Antimutagenic effects of mushrooms. *Mutat. Res.* 1990; 231(2): 243-49.
5. Lima PA, Delmanto RD, Sugui MM et al. *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (shiitake) modulates genotoxic and mutagenic effects induced by alkylating agents in vivo. *Mutat Res.* 2001; 496(1): 23-32.
6. Moorhead PS, Novel PC, Mellman WJ et al. Chromosome preparations of leukocyte cultured from human peripheral blood. *Exptl Cell Res.* 1960; 20: 613-16.
7. Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Ю. Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrücken: Lambert Acad. Publish. 2011: 524 с.
8. Ильинских И.Н., Новицкий В.В., Ильинских Е.Н. и др. Инфекционная карриопатология. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. 196 с.
9. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: Филинъ, 1997: 608.
10. Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Бочаров Е.Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск: Наука, 1986. 250 с.
11. Terakawa N, Matsui Y, Satoi S. Immunological effect of active hexose correlated compound (АНСС) in healthy volunteers: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Canc.* 2008. 60(5): 643-51.

## БИОКОНВЕРСИЯ ПРЕГНЕНОЛОНА МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ: ПОЛУЧЕНИЕ 11 $\alpha$ -ГИДРОКСИПРОГЕСТЕРОНА

Коллеров В.В., Шутов А.А., Доновна М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов  
им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино

11 $\alpha$ -Гидроксипрогестерон успешно используется в медицине благодаря своим противовоспалительным и антигонадотропным свойствам (El-Kadi and Mostafa, 2004). Его гормональная активность, связанная с регуляцией углеводного обмена в организме человека, обусловлена наличием в структуре стероида гидроксильной группы в положении С-11.

Способы получения 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона из прогестерона (3-оксо-4-ен-стероида) с использованием различных микроорганизмов, и в частности, мицелиальных грибов родов *Aspergillus* и *Rhizopus* широко представлены в литературе (Shibahara et al., 1979; Zakej-Mavric and Belic, 1987; Fernandes et al., 2003). Однако возможность микробиологического получения 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона из прегненолона (3-бета-гидрокси-5-ен-стероида) остается не изученной. Микробный синтез 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона из прегненолона позволяет совместить в одной биотехнологической стадии реакции окисления 3-гидроксигруппы, дельта-5-дельта-4 изомеризации и 11 $\alpha$ -гидроксилирования, что является экологически и экономически привлекательным, поскольку исключает несколько стадий химического синтеза.

**Цель работы** – поиск штаммов мицелиальных грибов, способных катализировать трансформацию прегненолона в 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерон с последующей оптимизацией процесса биоконверсии наиболее активной культурой.

Штаммы мицелиальных грибов были получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ ИБФМ им. Г.К.Скрыбина РАН) и рабочей коллекции лаборатории МТОС. Культуры выращивали в 100 мл среды следующего состава (г/л дистиллированной воды): крахмал – 45,0, дрожжевой экстракт – 3,0, MgSO<sub>4</sub> – 0,5, FeSO<sub>4</sub> – 0,05, CaCO<sub>3</sub> – 3,0, кукурузный экстракт – 10,0, pH 6,5 – 6,8, на качалке при 220 об/мин и 28 °С в течение 48 ч. Посевной материал (10% об/об) переносили в свежую среду следующего состава (г/л): сахароза – 10, дрожжевой экстракт – 3,0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5, pH 6,5 – 6,8 и продолжали инкубацию в течение 48 – 120 ч в аналогичных условиях.

Стероидный субстрат прегненолон (1–3 г/л) вносили в среду культивирования мицелия 2-й генерации в виде тонкоизмельченного порошка или растворов в органических растворителях (конечная концентрация растворителей не превышала 4% об/об). Для анализа продуктов трансформации использовали методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), колоночной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), масс-спектрометрии и  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопии, как описано ранее (Kollerov et al., 2008).

В ходе работы по скринингу микроорганизмов, способных трансформировать прегненолон (1 г/л) в 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерон использовали 27 штаммов мицелиальных грибов различного таксономического положения, потенциально способных к 11 $\alpha$ -гидроксилированию стероидов прегнанового ряда (табл.1; см. след стр.).

Способность катализировать конверсию прегненолона была выявлена для 8 штаммов – представителей родов *Aspergillus*, *Curvularia* и *Rhizopus*, при этом накопление целевого продукта – 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона наблюдалось в среде культивирования штамма *Rhizopus stolonifer* ВКМ F-401 и трех штаммов рода *Aspergillus*.

Сравнительный анализ отобранных грибных культур позволил выявить штамм *Aspergillus niger* ВКМ F-212 в качестве наиболее активного биокатализатора трансформации прегненолона в 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерон ( $\geq 50\%$ ). Ранее для данной культуры отмечалось наличие высокой гидроксилазной активности в отношении индолил-3-уксусной кислоты в 4-, 5- и 6-м положениях бензольного кольца с накоплением 5-гидроксипроизводного до 60% (Baklashova et al., 1984). Примечательно, что штаммы, обладающие 11 $\alpha$ -гидроксилазной активностью в отношении прогестерона, не были способны конвертировать прегненолон (*Absidia coerulea*, *Aspergillus ochraceus*, *Rhizopus* spp.)

При 4-дневной инкубации мицелия *Aspergillus niger* ВКМ F-212 с прегненолоном (1 г/л) было обнаружено 4 продукта, идентифицированные как прогестерон, 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерон, 6 $\beta$ ,11 $\alpha$ -дигидроксипрогестерон и 11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -дигидроксипрогестерон. Основным продуктом биоконверсии являлся 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерон. Его выход из прегненолона достигал 52%; содержание каждого из остальных производных к концу процесса не превышало 5–10%. Структура 11 $\alpha$ -ОН-прогестерона была подтверждена масс-спектрометрическим и  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопическим анализами; минорные соединения были идентифицированы на основании

Таблица 1. Трансформация прегненолона (1 г/л)  
мицелиальными грибами

	Штамм	Конверсия прегненолона	Накопление 11 $\alpha$ -ОН- прогестерона
<i>Absidia</i>	<i>coerulea</i> BKM F-7848	-	-
	<i>coerulea</i> BKM F-833	-	-
<i>Alternaria</i>	<i>alternate</i> BKM F-3047	-	-
	<i>ochraceus</i> BKM F-1982	-	-
<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i> BKM F-212	++	++
	<i>niger</i> ATTC 16404	-	-
	<i>terreus</i> BKM F-68	-	-
	sp.	+	+
	<i>flavus</i> BKM F-1024	-	-
	<i>awamori</i> BKM F-808	+	+
	<i>oryzae</i> BKM F-168	-	-
	<i>oryzae</i> BKM F-2096	-	-
	<i>sydowi</i> BKM F-441	++	-
	<i>sydowi</i> BKM F-2268	+	-
	<i>wieweus</i> BKM sp.	-	-
	<i>wentii</i> BKM F-797	-	-
<i>wentii</i> BKM F-3481	-	-	
sp.	-	-	
sp.	-	-	
<i>Bipolaris</i>	<i>australiensis</i> BKM F-3040	-	-
<i>Curvularia</i>	<i>protuberata</i> BKM F-3708	+	-
<i>Doratomyces</i>	<i>purpureofuscus</i> BKM F-2519	-	-
<i>Gibberella</i>	<i>zeae</i> BKM F-2600	-	-
	<i>stolonifer</i> BKM F-401	++	+
<i>Rhizopus</i>	sp.	+	-
	sp.	+	-
	<i>fimicola</i> BKM F-1563	-	-

совпадения значений их RF и RT с соответствующими значениями стандартных образцов.

В начальные часы биоконверсии происходило накопление прогестерона, содержание которого достигало максимума – 60% к 20–24 ч. Образование прогестерона из прегненолона свидетельствует о наличии у данного штамма 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназной активности. Последующая убыль прогестерона сопровождалась накоплением в среде основного продукта – 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона и двух дигидроксипроизводных. Максимальное количество 11 $\alpha$ -гидроксипроизводного (50–55%) накапливалось к 48–56 часам биоконверсии. В дальнейшие часы содержание основного продукта снижалось за счет образования побочных дигидроксильированных производных: 6 $\beta$ ,11 $\alpha$ -дигидроксипрогестерона и 11 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -дигидроксипрогестерона. На основании идентификации стероидных метаболитов и динамики их накопления предложена схема трансформации прегненолона культурой *Aspergillus niger* ВКМ F-212 (рис. 1).

При увеличении нагрузки стероидного субстрата до 2–3 г/л, эффективность трансформации прегненолона культурой *A. niger* ВКМ F-212 снижалась, а количество образованного 11 $\alpha$ -ОН-прогестерона не превышало 30–35%, с содержанием в среде конверсии остаточного субстрата до 40%.

Оптимизация условий трансформации была направлена на получение мелкого гомогенного мицелия и увеличение доступности субстрата ферментным системам гриба и включала: а) оптимизацию состава среды; б) оптимизацию времени внесения субстрата; в) изучение влияния солюбилизирующих агентов ( $\beta$ -циклодекстрина и его метильного и оксипропильного производных); в) исследование влияния неионогенных ПАВ. Установлено, что использование трансформационной среды, содержащей глюкозу (50 г/л), дрожжевой экстракт (10 г/л), соли магния (5 г/л), метил- $\beta$ -циклодекстрин (мольное соотношение к субстрату 1,5/1,0) с добавлением Твин-80 (0,1%) обеспечивает двукратное увеличение выхода 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона (до 65 – 70%) при нагрузке субстрата 2–3 г/л.

Таким образом, на основании скрининга активности 27 штаммов мицелиальных грибов различной таксономической принадлежности впервые установлена возможность эффективной биоконверсии прегненолона с образованием в качестве основного продукта – 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона с использованием растущего мицелия *Aspergillus niger* ВКМ F-212. Трансформация прегненолона включает окисление 3 $\beta$ -гидрокси-5-ен- в 3-кето-4-ен-структуру с образова-

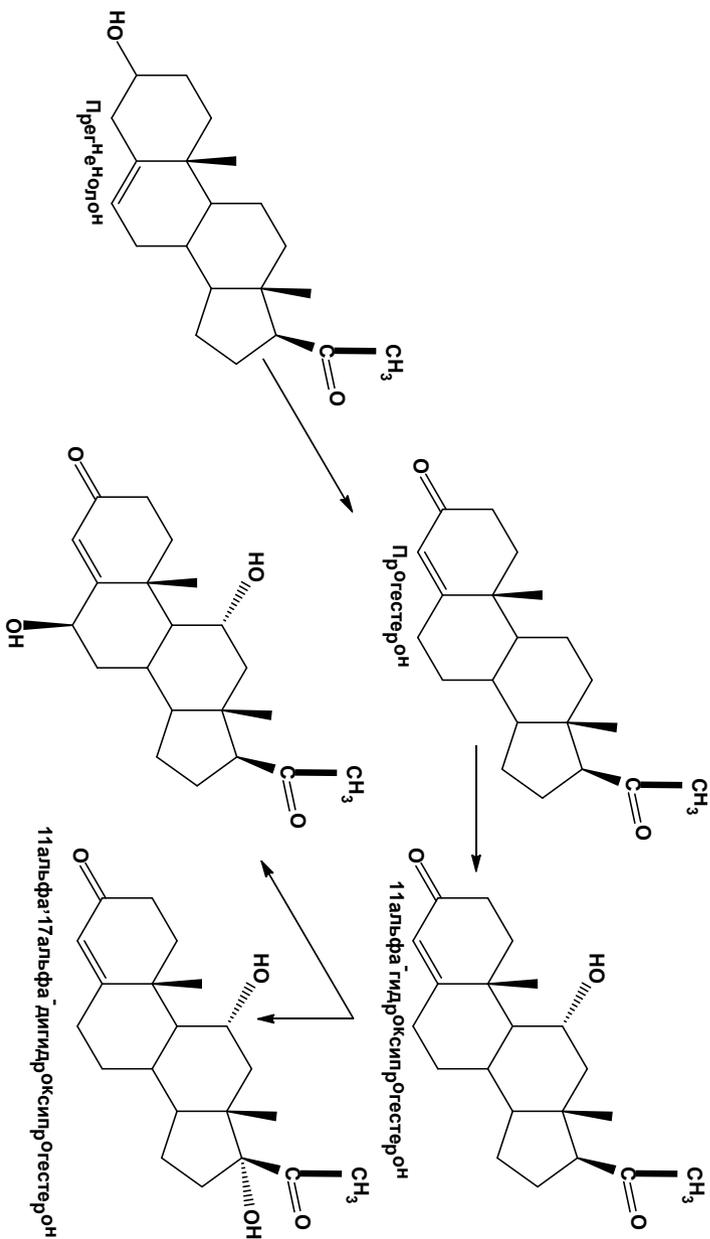


Рис. 1. Схема трансформации прегненолона культурой *Aspergillus niger* ВКМ F-212

нием в качестве ключевого интермедиата – прогестерона, который далее подвергается гидроксилированию в положении 11 $\alpha$ . Наряду с 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназной и 11 $\alpha$ -гидроксилазной активностями, у штамма выявлено наличие 6 $\beta$ - и 17 $\alpha$ -гидроксилазных активностей в отношении 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона, обусловливающих образование в качестве минорных продуктов соответствующих дигидроксипроизводных. В оптимизированных условиях выход 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона составил 65–70% при нагрузке субстрата 2–3 г/л.

Полученные результаты могут служить основой для создания нового метода получения 11 $\alpha$ -гидроксипрогестерона из прегненолона.

### Список литературы

1. El-Kadi IA, Mostafa ME. Hydroxylation of progesteron by some *Trichoderma* species. *Folia Microbiol.* 2004; 49(3): 285-90.
2. Shibahara M, Moody JA, Smith LL. Microbial hydroxylations. V. 11alpha-hydroxylation of progesterone by cell-free preparations of *Aspergillus ochraceus*. *Biochim Biophys Acta.* 1979. 202: 172-79.
3. Zakelj-Mavric M, Belic I. Hydroxylation of steroids with 11 alpha-hydroxylase of *Rhizopus nigricans*. *J Steroid Biochem.* 1987; 2: 197–201.
4. Fernandes P, Cruz A, Angelova B et all. Microbial conversion of steroid compounds: recent developments. *Enzyme Microb Technol.* 2003; 32(6): 688–705.
5. Kollerov VV, Shutov AA., Fokina VV et all. Biotransformation of 3-keto-androstanes by the strain of *Gongronella butleri* VKM F-1033. *J Mol Catal. B: Enzymatic.* 2008; 55(1-2): 61-8.
6. Baklashova TG, Koshcheyenko KA, Skryabin GK. Hydro-acylation of indolyl-3-acetic acid by immobilized mycelium of *Aspergillus niger*. *Eur J Appl Microbiol Biotechnol.* 1984; 19: 217-23.

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ С ВЫРАЖЕННОЙ УРОКИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, ОБРАЗУЕМЫЕ *ARTHROBOTRYS LONGA*

Корниенко Е.И., Осмоловский А.А., Звонарева Е.С.,  
Крейер В.Г., Шаркова Т.С., Егоров Н.С.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Почвенный микромицет-нематофаг *Arthrobotrys longa* – хорошо известный продуцент протеолитического комплекса тромболитического действия Лонголитин [1]. Тромболитические препараты – естественные патогенетические средства лечения тромбозов, осложняющих течение как сердечно-сосудистых, так и инфекционно-аллергических заболеваний [2]. Все тромболитические препараты можно разделить на прямые фибринолитики, которые воздействуют непосредственно на фибрин, активаторы плазминогена и непрямые фибринолитики, которые способны усиливать фибринолиз [3]. Препарат лонголитин характеризуется суммарным эффектом – фибринолитическим, тромболитическим, активаторным и незначительным протеолитическим действием [1].

При внутривенном введении лонголитина экспериментальным животным происходит повышение фибринолитических свойств плазмы крови: увеличивается фибринолитическая активность плазмы и эуглобулиновой фракции, возрастает количество активатора плазминогена. Повышение фибринолитической активности зависит от дозы и активности полученного фермента [4].

**Цель работы** – фракционировать препарат лонголитин и изучить субстратную специфичность входящих в его состав протеиназ.

**Материалы и методы.** Культивирование *A. longa* проводили в два этапа. На первом этапе наращивали биомассу продуцента в течении трех суток. На втором – полученную биомассу пересевали на биосинтетическую среду следующего состава (г/л): сахароза – 40,0,  $K_2HPO_4$  – 4,4,  $NaNO_3$  – 19,  $KNO_3$  – 2,5, рН 6,58 – 6,60. Препарат лонголитина получали путем осаждением ацетоном белков культуральной жидкости в соотношении 1: 2 после 6 суток культивирования продуцента, с последующим высушиванием в вакуумном эксикаторе. Разделение белков препарата проводили методом изоэлектрофокусирования в колонке с градиентом концентрации сахарозы 0-40% и градиентом рН амфолинов 3,0–10,0.

Изоэлектрофокусирование препарата выявило наличие 3 пиков, обладающих протеолитической активностью, со следующими значе-

ниями рI: 5,52, 6,91 и 10,64. Изучение субстратной специфичности полученных пиков, с использованием хромогенных пептидных субстратов белков системы гемостаза показало, что протеиназы всех 3 пиков обладают урокиназной активностью. Наибольшей урокиназной активностью ( $100,9 \text{ Е/мл} \times 10^{-3}$ ) обладала протеиназа пика 1 (таблица).

Таблица  
Субстратная специфичность белков полученных пиков с хромогенными пептидными субстратами.

Активности	Субстрат	Значения активности, $\text{Е/мл} \times 10^{-3}$		
		пик 1	пик 2	пик 3
Урокиназная	pGlu-Gly-Arg-pNa	100,9	78,8	26,7
тканевого активатора	dIle-Pro-Arg-pNA	0.0	0, 0	78,1
Плазмино-подобная	dVal-Leu-Lys-pNA	0.0	2,5	26,8
Тромбино-подобная	Tos-Gly-Pro-Arg-pNA	0.0	22,7	71,0

Дальнейшее изучение субстратной специфичности протеиназ показало, что в отношении исследуемых субстратов тканевого активатора плазминогена, плазмينا и тромбина их активность неодинакова. Так, протеиназа пика 1 не проявляла эти активности вовсе, протеиназа пика 2 не обладала активностью к субстрату тканевого активатора плазминогена и слабо гидролизовала субстраты плазмينا и тромбина, протеиназа пика 3 расщепляла все указанные субстраты (таблица). Это свидетельствует о том, что протеиназа 1-го пика обладает узкой субстратной специфичностью с выраженной урокиназной активностью, протеиназа 3-его пика проявляет широкую субстратную специфичность.

По-видимому, именно урокиназная активность и обуславливает активаторное к плазминогену действие лонголитина, благодаря которому стало возможным его применение для лечение тромбозов и флеботромбозов. Наличие в протеолитическом комплексе

*A. longa* протеиназ с разной субстратной специфичностью – причина установленного суммарного действия лонголитина. Использование очищенных протеиназ лонголитина по отдельности может сделать этот препарат более узкоспециализированным и подобрать новые пути его использования в качестве современного тромболитического средства.

#### Список литературы

1. Андреевко Г.В., Серебрякова Т.Н., Максимова Р.А и др. Свойства препарата фибринолитических ферментов, полученного из культуральной жидкости несовершенного гриба *Arthrobotrys longa*. Вестн. Моск. ун-та. 1981; 1: 24–8.
2. Подорольская Л.В., Шаркова Т.С., Андреевко Г.В., Серебрякова Т.Н. Гемостаз и фибринолиз при наружном применении тромболитического препарата лонголитин. Вестн. Моск. ун-та. 2002. Сер. 16. Биол.; 2: 11–5.
3. Марков В.А., Вышлов Е.В. Тромболитическая терапия при инфаркте миокарда. Томск. 2011; гл. 4: 38.
4. Серебрякова Т.Н., Андреевко Г.В., Цыманович С.Г. Влияние лонголитина – протеазы, образуемой грибом *Arthrobotrys longa*, – на фибринолиз у животных. Вестн. Моск. ун-та. 1984. Сер. 16. Биол.; 3: 43–7.

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИЙ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А.,  
Храмов М.В., Быстрова Е.В.

ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск

Одной из задач по обеспечению проведения противоэпидемических мероприятий в отношении возбудителя сибирской язвы является внедрение в практику новых дезинфектологических препаратов и технологий их применения [1]. В настоящее время основными средствами деконтаминации зараженной сибиреязвенным микробом почвы продолжают оставаться химические дезинфицирующие средства [2]. Однако химические средства имеют ряд недостатков экологического и санитарно-гигиенического характера [3].

В перечне дезинфицирующих средств, используемых для обеззараживания почвы, полностью отсутствуют биологические препараты [4]. Вместе с тем известно, что почва богата микробными антагонистами, выполняющими заметную роль в элиминации бактериальных патогенов [5]. Известно также, что в отношении бактерии *Bacillus anthracis* наибольшим потенциалом антагонистического воздействия обладают культуры *Streptomyces roseus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli* [6].

Среди микробов, подавляющих развитие возбудителя сибирской язвы, наиболее изучены актиномицеты [7]. Микромицеты, как антагонисты возбудителя сибирской язвы, остаются без внимания. Вместе с тем известно, что грибы являются продуцентами многих биологически активных веществ, нашедших в настоящее время широкое применение в фармакологии, и по сравнению с продуктами химического синтеза менее токсичны и более эффективны [8, 9].

Установлено, что на долю метаболитов грибного синтеза приходится более 50% от всех вновь открываемых биологически активных природных соединений [10]. Учитывая эти обстоятельства, в ГНЦ ПМБ начаты исследования по изучению микромицетов и веществ грибного синтеза, активных в отношении возбудителя сибирской язвы [11]. В результате скрининга более 500 штаммов микромицетов из коллекции «ГКПМ-Оболенск» выявлено 105 штаммов, принадлежащих к 69 видам 33 родов, активных в отношении *B. anthracis*.

Приводятся результаты исследований по получению субстанций на основе мицелиальных грибов и их лабораторные испытания в

отношении сибиреязвенного микроба. В работе использовали культуры мицелиальных грибов родов *Trichoderma* и *Penicillium*, задепонированных в коллекцию «ГКПМ-Оболенск» в качестве активных штаммов в отношении *B. anthracis*.

Выращивание штаммов грибов проводили на плотной питательной среде следующего состава (г/л): пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 5,0; агар – 15,0; глюкоза – 10,0; мальтоза – 10,0;  $\text{NaNO}_3$  – 2,0;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0; гентамицин – 0,04 мкг/мл [12]. Грибы выращивали при температуре  $24 + 0,5^\circ\text{C}$  до массовой споруляции в течение  $5 \div 7$  сут.

Для культивирования штаммов грибов в колбах использовали питательную среду следующего состава: соевая мука – 30,0 (г/л); дрожжевой экстракт – 8,0 (г/л); калий фосфорнокислый однозамещенный – 3,0 (г/л); вода питьевая – до 1 л, рН среды –  $6,3 \pm 0,2$ .

Для засева питательной среды использовали инокулюм в объеме 5 мл. Культивирование осуществляли в качалочных колбах  $V=750$  мл, содержащих 100 мл среды, при температуре  $25^\circ\text{C}$  на подвесной качалке со скоростью вращения 220 об/мин в течение 72 ч. Полученную культуральную жидкость центрифугировали при 6000 об/мин в течение 20 мин. В результате центрифугирования получали фугат культуральной жидкости (ФКЖ), который использовали для определения антибактериальной активности в отношении возбудителя сибирской язвы (вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1). Фугат культуральной жидкости является той микробиологической субстанцией, из которой путем её экстрагирования и фракционирования можно получить метаболиты грибного синтеза.

В качестве питательной основы для культивирования вакцинного штамма *B. anthracis* служил ферментативный гидролизат мяса или рыбкостной муки. К питательной основе, содержащей 100–120 мг% аминного азота, вносили агар микробиологический из расчета 15 г/л, доводили рН до 7,2–7,3, разливали по флаконам и стерилизовали 12–20 мин в автоклаве при 0,5 атм. Перед применением в агаризованную питательную среду добавляли полимиксин в концентрации 100 мкг/см<sup>3</sup> для предотвращения роста посторонней микрофлоры. Среду разливали в чашки Петри слоем толщиной 2,0–2,5 мм.

Для засева питательной среды бактериальной культурой *B. anthracis* опытным путем подобрали концентрацию микроорганизма для получения на чашках Петри сплошного, но не густого газона. Стандартизацию проводили по шкале McFarlanda, используя стандарты мутности. Суспензию суточной культуры плотностью  $10^6$  кл/мл высевали на чашки Петри диаметром 90 мм по 0,2 мл,

растирали шпателем для получения однородного газона и оставляли на 30 мин для полного впитывания в агар. Чашки с газоном бактериальной культуры инкубировали в течение 1–2 сут при температуре  $32 \pm 0,5$  °С.

В эксперименте по определению антибактериальной активности ФКЖ штаммов грибов испытывали две дозы (10 и 100 мкл), которые вносили в 4-х повторностях в лунки диаметром 5 мм на газон тест-культуры вакцинного штамма *Bacillus anthracis* (СТИ-1). При этом применяли следующую шкалу активности: высокая активность – диаметр зоны подавления тест-культуры 21–30 мм и более; умеренная активность – диаметр зоны 10–20 мм; низкая активность – диаметр зоны 6–9 мм [11]. Данные представлены в табл. 1 и 2.

Установлено, что при дозах 10 и 100 мкл высокая активность ФКЖ отмечена только для штамма *T. hamatum* F-11, соответственно 23–25 и 35–45 мм. Для ФКЖ штаммов *T. koningii* F-1402 и *T. asperellum* F-1290 высокая активность (соответственно 28–45 и 22–30 мм) наблюдается только при дозе 100 мкл. Активность ФКЖ штамма *T. asperellum* F-7 при дозе 100 мкл является умеренной.

Культивирование штаммов грибов *Penicillium*, получение грибной субстанции в виде ФКЖ и определение её активности в отношении возбудителя сибирской язвы (табл. 2) проводили по методу, описанному выше.

Высокая активность ФКЖ штаммов *Penicillium* отмечена только при дозе 100 мкл. Причем, высокая активность ФКЖ штамма *P. brevicompactum* F-1565 отмечается уже по прошествии 4 ч (30 мм) и достигает максимума через 48 ч (40 мм). Высокая активность ФКЖ других штаммов *Penicillium* (25–35 мм) наблюдается после 2-х сут. культивирования. У всех трех штаммов *Penicillium* высокая активность ФКЖ сохраняется по прошествии 3-х сут культивирования. Из приведенных данных следует, что наиболее активной грибной субстанцией в отношении *B. anthracis* является ФКЖ штамма *P. brevicompactum* F-1565.

По результатам двух серий лабораторных испытаний, ФКЖ семи штаммов грибов высокоактивными в отношении штамма *B. anthracis* СТИ-1 являются субстанции, полученные из следующих штаммов грибов: *T. hamatum* F-11, *T. koningii* F-1402, *T. asperellum* F-1290, *P. brevicompactum* F-1565. Указанные субстанции обладали активностью уже через 24 ч культивирования. Отобрано 2 штамма – *T. hamatum* F-11 и *P. brevicompactum* F-1565 в качестве штаммов-продуцентов для разработки новых препаратов, предназначенных для борьбы с возбудителем сибирской язвы.

Таблица 1. Антибактериальная активность ФКЖ штаммов *Trichoderma* в отношении культуры *Vaccillus anthracis* СТИ-1

ФКЖ штамма (мкл)	Часы роста культуры грибов, ч									
	24	30	48	54	72	72	100	100	10	10
Зона угнетения роста <i>Vaccillus anthracis</i> , мм (X±m)	Зона угнетения роста <i>Vaccillus anthracis</i> , мм (X±m)									
	40±5	23±3	35±4	20±3	35±4	20±3	42±4	25±3	45±5	23±3
<i>T. asperellum</i> , F-1290	30±4	15±2	25±3	15±2	25±2	00	22±3	13±2	25±3	00
<i>T. koningi</i> , F-1402	28±4	20±3	38±4	20±3	45±5	20±3	22±3	10±2	20±3	00
<i>T. asperellum</i> , F-7	14±2		20±3		20±3		20±3		00	

Таблица 2. Антибактериальная активность ФКЖ штаммов *Penicillium* в отношении культуры *Vaccillus anthracis* СТИ-1

ФКЖ штамма (мкл)	Часы роста культуры грибов, ч									
	24	30	48	54	72	72	100	100	10	10
Зона угнетения роста <i>Vaccillus anthracis</i> , мм (X±m)	Зона угнетения роста <i>Vaccillus anthracis</i> , мм (X±m)									
	30±3	13±2	30±3	10±2	40±4	20±3	40±4	15±3	35±4	13±2
<i>Penicillium brevicompactum</i> , F-1565	00	00	15±2	00	35±4	10±2	35±4	8±2	35±4	10±2
<i>R. stivignii</i> , F-1668	00	00	25±3	12±2	25±3	10±2	32±4	12±2	25±3	00

Примечание – Пустые клетки – отсутствие наблюдений

**Список литературы**

1. О мерах совершенствования мероприятий по профилактике сибирской язвы в Российской Федерации. Постановвл. главн. гос. санит. врача РФ Г.Г. Онищенко №41 от 27 июня 2008 г.
2. Соколова Н. Ф. Современные средства и методы для дезинфекции при сибирской язве. В сб.: Мат. VIII Всеросс съезда эпидемиол., микробиол. и паразитол. М.: Росинэкс. 2002: 56-7.
3. Фёдорова Л.С., Цвинова И.М., Белова А.С., Левчук Н.С. Дезинфицирующие свойства хлорактивных соединений и средств на их основе (обзор литературы). Дезинф. дело. 2011. 4:11-9.
4. Дезинфицирующие средства: Справочник. М.: Торговая компания «БИНГО ГРАНД». 2007: 336 с.
5. Черкасский Б.Л. Принципы и перспективы санации почвенных очагов сибирской язвы. В сб.: Межд. симпоз. по дезинфекции и стерилизации. М.: Медицина. 1972: 54-6 .
6. Семенова С.А., Галиуллин А.К. Микробные антагонисты для биологической санации скотомогильников. Ученые записки КГАВМ. Казань. 2010; 204: 246-51.
7. Калюжная Л.Д., Брянская А.М., Коротич А.С., Касавченко В.П. Изучение антагонистического действия актиномицетов на бактерии сибирской язвы. Антибиотики. 1975; 7: 617-23.
8. Петров П.Т., Скрипко А.Д., Литвинова и др. Новые лекарственные средства на основе биологически активных соединений мицелиальных грибов. Усп. мед. микол. 2006; 7: 198-199.
9. Holliday J, Cleaver M. Medicinal value of the Caterpillar fungi species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes). A review. Intern J Medicin Mushrooms. 2008; 10(3): 219-34.
10. Бибикова М.В., Катлинский А.В. Биотехнология микромицетов – реальность и перспектива. Совр. микол. в России. 2008; 2.
11. Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Юскевич В.В. и др. Поиск штаммов микромицетов, обладающих бактерицидной активностью в отношении возбудителя сибирской язвы. Совр. микол. в России. 2012; 3: 381.
12. Юскевич В.В., Володина Л.И., Александрова А.В., Лиховидов В.Е., Баранов А.М. Применение контактно-сорбционного обезвоживания для длительного хранения микромицетов разных таксономических групп. Микол. фитопатол. 2011; 45(6): 535-40.

## ПОЛУЧЕНИЕ ГРИБНЫХ СУБСТАНЦИЙ И ИХ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ

Лиховидов В.Е., Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М.,  
Быстрова Е.В.

ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск

Среди микробов, подавляющих развитие возбудителя туляремии, грибы являются наименее изученной группой микроорганизмов. В научной литературе известны лишь единичные работы, посвященные данной проблеме. Из них заслуживает внимание работа по поиску новых антибиотиков из метаболитов высших грибов, обладающих бактерицидным действием в отношении возбудителя туляремии [1]. Микромицеты как антагонисты возбудителя туляремии долгое время оставались без внимания. Вместе с тем известно, что грибы являются продуцентами многих биологически активных веществ, нашедших в настоящее время широкое применение в фармакологии [2]. К настоящему времени только из анаморфных видов грибов выделено около 1500 антибиотиков [3].

Это послужило поводом для проведения в ГНЦПМБ специальных исследований по поиску и изучению микромицетов с антагонистическими свойствами в отношении возбудителя туляремии. Известно, что 95 штаммов мицелиальных грибов, относящихся к 54 видам 27 родов, обладают антагонистической активностью в отношении *Francisella tularensis* [4]. Начаты исследования по оценке мицелиальных грибов и их субстанций на активность в отношении возбудителя туляремии [5].

В работе приводятся результаты исследований по получению грибных субстанций и их лабораторным испытаниям на активность в отношении возбудителя туляремии. Для получения грибных субстанций использовали 12 культур мицелиальных грибов из 6 родов, задепонированных в коллекцию «ГКПМ-Оболенск» в качестве штаммов, обладающих антибактериальной активностью в отношении *Francisella tularensis*. Всего в коллекцию «ГКПМ-Оболенск» задепонировано около 30 штаммов с антагонистическими свойствами в отношении туляремийного микроба.

Штаммов грибов выращивали на плотной питательной среде следующего состава (г/л): пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 5,0; агар – 15,0; глюкоза – 10,0; мальтоза – 10, NaNO<sub>3</sub> – 2,0; KCl – 0,5; FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O – 0,01; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O – 0,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1,0; гентамицин – 0,04

мкг/мл [6]. Грибы выращивали в термостате при температуре  $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение  $5 \div 7$  сут до массовой споруляции.

Для культивирования штаммов грибов в колбах использовали питательную среду следующего состава: соевая мука – 30,0 (г/л); дрожжевой экстракт – 8,0 (г/л); калий фосфорнокислый однозамещенный -3,0 (г/л); вода питьевая – до 1 л; рН среды  $6,3 \pm 0,2$ .

Для засева питательной среды использовали инокулом в количестве 5 мл. Исходный рН среды ( $6,3 \pm 0,2$ ). Культивирование проводили на подвесной качалке со скоростью вращения 220 об/мин в течение 4 сут. Культуральную жидкость каждой пробы центрифугировали при скорости вращения 6000 об/мин в течение 20 мин. В результате центрифугирования получали фугат культуральной жидкости (ФКЖ), который использовали для определения антибактериальной активности в отношении возбудителя туляремии *F. tularensis* (вакцинный штамм 15/10). ФКЖ является той субстанцией, из которой путем её экстрагирования и фракционирования можно получить метаболиты грибного синтеза.

Для определения активности ФКЖ использовали метод лунок, в которые закапывали по 0,1 мл (100 мкл) ФКЖ. Повторность опытов 4-кратная. При этом применяли следующую шкалу активности ФКЖ: высокая активность – диаметр зоны подавления 21–30 мм и более; умеренная активность – диаметр зоны 10–20 мм; низкая активность – диаметр зоны 6–9 мм.

Тест-культуру *F. tularensis* 15/10 выращивали в чашках Петри на плотной питательной среде для туляремиального микроба (ТА), содержащей: 3,8% эритрат агара, 1% высушенной крови крупного рогатого скота, 1% глюкозы, 0,05% цистеина, 0,0025% тиамида хлорида, рН 7,2%. Инкубацию посевов вели при  $37^\circ\text{C}$  в течение 18 ч. По отраслевому стандартному образцу мутности готовили суспензию клеток в 2 мл 0,9 %-ного NaCl и получали разведение  $5 \times 10^7$  м.к./мл. Из него высевали 0,2 мл суспензии *F. tularensis* на газон со средой ТА.

Работа проводилась в 2 этапа. На 1-м этапе изучалась динамика активности ФКЖ штаммов грибов в зависимости от времени культивирования штаммов-продуцентов. На 2-м этапе исследовалась антибактериальная активность ФКЖ, полученная в оптимальные сроки культивирования штаммов-продуцентов. Полученные данные представлены в табл. 1 и 2. Исходя из приведенных данных, активность ФКЖ штамма *Penicillium brevicompactum* F-1565 начинает формировать на вторые сутки, достигает максимума через четверо суток, а затем постепенно снижается. Активность ФКЖ штамма *Calcarisporium arbuscula* F-80 формируется уже через сутки

Таблица 1. Динамика антибактериальной активности ФКЖ (доза 100 мкл) штаммов грибов различных таксонов в отношении возбудителя туляремии *Francisella tularensis* (вакцинный штамм 15/10)

ФКЖ штамма	Время культивирования штамма, сутки					
	1	2	3	4	5	6
	Зона подавления роста тест-культуры, мм ( $X \pm m$ )					
<i>Penicillium brevicompactum</i> , F-1565	00	42±5	40±4	42±5	40±4	38±4
<i>Calcarisporum arbuscula</i> , F-80	24±3	26±3	26±3	30±3	26±3	32±4
<i>Clonostachys candelabrum</i> , F-1466	00	00	35±4	45±5	40±5	40±5

Таблица 2. Активность ФКЖ (доза 100 мкл) мицелиальных штаммов грибов в отношении возбудителя туляремии *F. tularensis* (вакцинный штамм 15/10)

ФКЖ штамма	Зона подавления роста тест-культуры, мм ( $X \pm m$ )
<i>Penicillium brevicompactum</i> , F-1565	42±5
<i>Purpureocillium lilacinum</i> , F-1550	32±4
<i>Purpureocillium lilacinu</i> , F-1768	18±2
<i>Humicola fuscoatra</i> , F-1546	32±3
<i>Penicillium chrysogenum</i> , F-1791	00
<i>Penicillium citrinum</i> , F-1781	24±3
<i>Penicillium islandicum</i> , F-1762	28±3
<i>Purpureocillium lilacinum</i> , F-1768	18±2
<i>Eupenicillium sp</i> , F-1759	34±4
<i>Penicillium discolor</i> , F-1767	22±3
<i>Calcarisporum arbuscula</i> , F-80	22±3
<i>Clonostachys candelabrum</i> , F-1466	50±5

и постепенно нарастает в течение всего времени культивирования штамма. Активность ФКЖ штамма *Clonostachys candelabrum* F-1466 проявляется через двое суток и достигает максимума на четвертые сутки культивирования.

Таким образом, для всех вариантов опыта характерно, что наиболее высокая активность ФКЖ наблюдается через 4 сут после начала культивирования штаммов. Эта зависимость положена в основу опыта, в котором испытывали 4-суточные культуры грибов (табл. 2).

Установлено, что из 12 протестированных грибных субстанций высокая активность (диаметр зоны подавления тест-объекта 21–30 мм и более) отмечена для ФКЖ 9 штаммов грибов: *P. brevicompactum* F-1565, *Eupenicillium* sp. F-1759, *Purpureocillium lilacinum* F-1550, *Humicola fuscoatra* F-1546, *P. islandicum* F-1762, *P. citrinum* F-1781, *P. discolor* F-1767, *C. arbuscula* F-80, *Clonostachys candelabrum* F-1466.

Наибольшую активность (диаметр зоны подавления свыше 30 мм) показали ФКЖ 5 шт.: *C. candelabrum* F-1466 – (50±5); *P. brevicompactum* F-1565 – (42±5); *Eupenicillium* sp. F-1759 – (34±4); *Purpureocillium lilacinum* F-1550 – (32±4); *H. fuscoatra* F-1546 – (32±4).

Таким образом, лабораторные испытания грибных субстанций выявили штаммы, продукция которых характеризуется высокой антибактериальной активностью в отношении туляремийного микроба. Эти штаммы являются перспективными агентами для получения биологически активных веществ с антимикробным действием в отношении возбудителя туляремии.

### Список литературы

1. Шариков А.М., Пашенова И.А., Новицкий Н.В. Выраженность бактерицидной активности гриба *Inonotus obliquus* pilat в отношении *Francisella tularensis* линии 15 НИИЭГ. Сиб. мед. обозр. Красноярск. 2008;1: 19-21.
2. Петров П.Т., Скрипко А.Д., Литвинова Е.В. и др. Новые лекарственные средства на основе биологически активных соединений мицелиальных грибов. Усп. мед. микол. 2006; 7: 198-99.
3. Дудник Ю.В. Вторичные метаболиты грибов. Совр. микол. в России. 2002; 1: 263-64.
4. Юскевич В.В. Формирование коллекции природных микромицетов и выявление штаммов с антибактериальными и москитоцидными свойствами. Автореф. канд. дис. Оболенск, 2012: 26 с.
5. Лиховидов В.Е., Мокриевич А.Н, Вахромеева Г.М. Антибактериальная активность субстанций мицелиальных грибов в отношении возбудителя туляремии. Усп. мед. микол. 2014; 12: 318-20.
6. Юскевич В.В., Володина Л.И., Александрова А.В. и др. Применение контактно-сорбционного обезвоживания для длительного хранения микромицетов разных таксономических групп. Микол. фитопатол. 2011; 45(6): 535-40.

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КУЛЬТУРЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В.

Научно-исследовательский институт биологии Иркутского  
государственного университета, г. Иркутск

Интенсивные технологии воспроизводства ряда трутовых грибов – продуцентов биологически активных веществ, а также некоторых видов сумчатых позволили отказаться от сбора их в природных условиях, тем более что некоторые из них встречаются довольно редко (*Ganoderma lucidum*). Для выращивания используются жидкие и твердые питательные среды. В качестве субстрата чаще всего используются пищевое сырье (зерно, корнеплоды), а также отходы лесного и сельского хозяйства (опилки, стружки, солома, лузга и т.д.).

В технологических культурах нами изучается 18 видов микро- и макромицетов в качестве продуцентов ряда биологически активных веществ таких, как меланин, который по разработанной технологии получаем в форме пигмента определенной чистоты, спиртовых и водных экстрактов из базидиальных грибов с высоким содержанием полисахаридов, пептидов, ненасыщенных жирных кислот и других веществ (табл.). Представленные в данной таблице виды грибов в разной степени изучены. Наиболее востребованными оказались базидиомицеты *G. lucidum*, *Lentinus edodes* и *Trametes versicolor* как продуценты биологически активных веществ, используемых современной медициной.

Получение биологически активных добавок к пище и лекарственных средств из грибов возможно как из природного сырья, так и из стерильного, конидиеносного мицелия микро- и макромицетов. Что касается микромицетов, то технологии их массового производства разработаны довольно хорошо, т. к. многие из них используются в качестве продуцентов и основы биологических препаратов. Общее число лекарственных базидиомицетов, сумчатых грибов насчитывает многие десятки, а может и сотни видов, но в технологических культурах таких макромицетов сравнительно немного.

Так, для производства пищевого мицелия в глубинных условиях используются виды базидиомицетов из родов: *Pleurotes*, *Flammulina*, *Pholiota*, *Lentinus*, *Polyporus*, *Agaricus*, *Macrolepiota*, *Coprinus*, *Snillus* [9].

## Лекарственные грибы в технологических культурах

Вид гриба	Питательная среда	Конечный продукт	Основные биологически активные вещества-ва	Выраженный лечебный эффект
Отдел Basidiomycetes				
<i>Liptorogus betulinus</i> (Fr.) Karst.	Среда Чапека с дрожжами, сусло-агар, отвары овощей и зерновых культур	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Полиреновая кислота	Противо-опухолевая, противо-воспалительная активность
<i>Fomitopsis officinalis</i> (Vill. Fr.) Bond et Sing	Среда Чапека с добавлением отвара пшеницы, овса и вешенки. Твердая среда: пшеница+овес+опилки листовницы тонкого помола	Комбинированный углекислотный, водный и спиртовой экстракт мицелия и природных плодовых тел	Липиды, белки, полисахариды	Инфекционные заболевания: грипп, туберкулез. При опухолях, для лечения почек, поджелудочной железы, ЖКТ (1)
<i>Coriolus versicolor</i> (Fr.) Quel (= <i>Trametes versicolor</i> (L.; Fr.) Pil.) <i>C. pubescens</i> (Shum; Fr) <i>Quel</i>	Среда Чапека с дрожжами, сусло-агар, ячмень, пшеница (80 %) + отрубь (20 %), ячмень (70 %) + мелкая стружка осины		Полисахариды, пептиды, протогликан-крестин*	Иммуно-модуляторы, противоопухолевые препараты*

<i>Lactiporus sulphureus</i> (Bull.:Fr.) Bond et Sing	Отвары корнеплодов и зерновых культур (пшеница, ячмень, овес)	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Алкалоиды-0,4%, терпеновые соединения - 0,5%, полисахариды- 24-65%, хитин-2-5%, белки- 12-48% (2)	Противо-опухолевая, антибактериальная, тонизирующая, общеукрепляющая активность [3]
<i>Inonotus obliquus</i> (Fr.) Pil forma sterilis (Van.) Nicol	Сусло-агар, зерновые культуры. Отвар риса, отвар грибов	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Меланин, гуминоподобная чаговая кислота (60%), щавелевая кислота (45%), полисахариды (6-8%). Полифенол-карбоновый комплекс [4, 6]	Новообразования различной локализации. Высокая антиоксидантная, генопротекторная активность [5]
<i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis:Fr.) P. Karst. – лакированный	Сусло-агар, отвары овощей и зерновых культур, зерновые культуры (20 %) + солома или опилки лиственных пород (80 %)	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Полисахариды -2,54 %, β-ка-ротин, витамины Е, В, фосфолипиды- 5%, полиненасыщенные жирные кислоты, белки- 17,1 %, стероиды-1,1*.	Антиоксидант, сердечно-сосудистые заболевания, противо-опухолевая, противо-воспалительная активность

<i>Flamulina velutipes</i> (Fr.) Karst	Сусло-агар, отвары зерновых культур, на средах овса, ячменя, пшеницы с добавлением опилок тополя, осины, березы	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Белок до 30%, каротин, витамины: РР, А, В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> . Минеральные вещества до 7-8% (3)	Иммуномодулятор, противоопухолевая активность (7)
<i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Pegler	Сусло-агар, отвары овощей и зерновых культур, отрубей+гипс+ кукурузная крупа (84:10:6)	Экстракты водные, спиртовые мицелия и природных плодовых тел	Полисахарид – лентинан, ами-нокислоты, клетчатка, витамины В и D*	Антиоксидант, сердечно-сосудистые заболевания, противоопухолевая, противовоспалительная активность
<i>Sporinus misacens</i> Fr. <i>S. comatus</i> (Mill.:Fr.) S.F. Gray	Пшеничная мелко нарезанная солома с добавлением отрубей и дрожжей	Водные экстракты молодых грибов: навозника белого косматого, навозника мерцающего, навозника серого	Меланин, целлюлаза	Сахарный диабет, алкоголизм

<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	Сусло-агар, зерновые культуры с сухими листьями и стружками осины	Водная и спиртовая кашица из плодовых тел. Экстракты вегетативного мицелия	Хиноманноза, эргостерол	Антигельминтное средство. Заболевание печени, ожирение, цирроз, гепатит
<i>Lactarius deliciosus</i> (Fr. J. F. Gray L. <i>semisanguifluus</i> Heim et Leclair	Природное сырье	Масляные экстракты плодовых тел	Антибиотик лактариовиалин (8)	Антибактериальная активность. Лечение геморроя, воспалений на коже, угревой сыпи, пигментных пятен, ожогов
<i>Lycoperdon perlatum</i> Pers	Сусло-агар, ячмень, пшено, отвары ячменя и пшена	Порошок плодовых тел	Меланин	Лечение ран, ожогов, при заболеваниях кровеносных сосудов*
Отдел Ascomycota, класс Ascomycotales				
<i>Cordyceps militaris</i> (Fr.) Link Анаморфа <i>Lecanicillium muscarium</i>	Среда Чапека, сусло-агар, рис, пшено. Насекомые для заражения – большая вошная моль	Плодовые тела, вегетативный мицелий с жидкой среды, мицелий на зерновой среде	Полисахариды, пептиды, гликозиды, жирные ненасыщенные кислоты, комплекс витаминов и микроэлементов	Лечение почек, легких, одышка, астма, хронический бронхит, антиоксидант, противоопухолевое, усиление иммунитета*

<i>Cordyceps cicicutulare</i> <i>Ravenel ex Berk.</i>	Среда Чапека, сусло-агар, рис, пшено. Насекомые для заражения – личинки проволочника	Вегетативный мицелий с жидкой среды, мицелий на зерновой среде	Полисахариды (глюканы)	Антиоксидант, иммуно-модулятор*
<i>Isaria farinosa</i> ( <i>Holm ex S.F. Gray</i> ) (= <i>Paecilomyces longipes</i> ( <i>Petch</i> ) <i>Brown et Smith</i> )	Среда сусло-агар, рис, отруби+пшено. Насекомые для заражения – большая воцинная моль, сибирский шелкопряд, листовничная муха	Воздушный мицелий с конидиеносцами на искусственных средах	Полисахариды, пептиды	Антиоксиданты, иммуно-модулятор*
<i>Cordyceps starphylinidicola</i> = <i>C. bassiana</i> / Анаморфа <i>Beauveria bassiana</i>	Среда Чапека, сусло-агар, рис, пшено, насекомые для заражения: листовничная муха, большая воцинная моль	Вегетативный мицелий с жидкой и твердой сред, склероции <i>G. mellonella</i>	Полисахариды (глюканы), пептиды, кордицепин, D-манитол	Антиоксидант, иммуномодулятор, протвоопухолеваая активность

Анаморфные, несовершенные или митоспоровые грибы, класс Zygomycetes				
<i>Aspergillus carbopariis</i> (Vainier) Thom – продуцент меланина	Среда Чапека, отвары овощей и зерновых культур (пшеница, пшено)	Мицелий с жидкой среды, грибица на твердых средах	Пигмент- меланин, органические кислоты	Фото- и радиопротекторное, антиоксидантное действие, сорбент тяжелых металлов, защита от УФ- лучей, участвует в репарации ДНК, в процессах функционирования дыхательной цепи как акцептор электронов, модулятор клеточного метаболизма, участвует в нейромедиаторных процессах при нарушениях функциональных структур нейронов*

\* - по материалам литературных источников.

Так, для производства пищевого мицелия в глубинных условиях используются виды базидиомицетов из родов: *Pleurotes*, *Flammulina*, *Pholiota*, *Lentinus*, *Polyporus*, *Agaricus*, *Macrolepiota*, *Coprinus*, *Snillus* [9].

Давно и успешно в стационарных условиях на твердых и жидких питательных средах воспроизводятся *G. lucidum* и *L. edodes*, при этом получают как вегетативную биомассу, так и плодовые тела. Эти базидиальные ксилотрофы в последние годы удалось производить в глубинных условиях с целью получения полисахаридов, пектинов и других биологически активных веществ.

Сумчатые грибы, в частности, представители рода *Cordyceps*, особенно анаморфы некоторых видов можно успешно размножить на ряде сред из зерновых и корнеплодов.

На основе культур *G. lucidum*, *L. edodes*, *C. militaris* – продуцентов биологически активных веществ нами получены препараты, которые сертифицированы в Роспотребнадзоре качестве БАДов – источников полисахаридов ( $\beta$ -глюканов), кордиципина, растворимых пищевых волокон, и фенольных соединений.

### Список литературы

1. Филиппова И.А. Естественное лекарство нового тысячелетия. Грибы против рака. СПб.: «ДИЛЯ». 2008: 128 с.
2. Агафонова С.В. Изучение химического состава и особенностей накопления биологически активных соединений в плодовых телах *Laetiporus sulphureus* (Bull.: fr.) murr. в условиях Прибайкалья. Автореф. дис... канд. биол. наук.: Иркутск, 2007: 23 с.
3. Морозов А.И. Лекарственные грибы. М.: ООО «Изд-во АСТ»; Донецк: «Сталкер». 2003: 207 с.
4. Шиврина А.Н., Ловягина Е.В., Платонова Е.Г. О химическом составе чаги. Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии. Л.: Наука, 1959: 55–62.
5. Щерба В.В., Бабицкая В.Т. Углеводы глубинного мицелия ксилотрофных базидиомицетов. Прикл. биохим. и микробиол. 2004; 40(6): 634–8.
6. Рыжова Г.Л., Кравцова С.С., Матасова С.А. и др. Химические и фармакологические свойства сухого экстракта чаги. Хим.-фарм. журн. 1997; 10: 44–7.
7. Stamets P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press. 1993: 552 p.
8. Горленко М.В., Гарибова Л.В., Сидорова И.И. и др. Все о грибах. Лесн. пром-сть, 1986: 280 с.

9. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев: Наукова думка, 1988: 144 с.
10. Лобанок А.Г., Бабицкая В.Г., Пленина Л.В. и др. Состав и биологическая активность глубинного мицелия ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes*. Прикл. биохим. и микробиол. 2003; 391(1): 69-73.
11. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А., Смирнов Д.А. Факторы, влияющие на образование полисахаридов *Canoderma lucidum*. - Прикл. биохим. и микробиол. 2005; 41(2): 194-99.
12. Коваль Э.З. Клавиципитальные грибы СССР. Киев: Наукова думка, 1984: 287 с.
13. Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р. Энтомопатогенные грибы Восточной Сибири. Иркутск: Иркут. ун-т, 2000: 142 с.
14. Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В. Биотехнологии на основе грибов. Иркутск: Иркут. ун-т. 2005: 234 с.

## ОСОБЕННОСТИ РАССАСЫВАНИЯ ГЕМАТОМ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ ГРИБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЛОНГОЛИТИНОМ.

Подорольская Л.В., Шаркова Т.С.

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

Препарат лонголитин, выделенный и частично очищенный из анафорного сапротрофного гриба *Arthrobotrys longa*, представляет собой прочный комплекс протеаз, который вместе с небольшими дозами гепарина обладает фибринолитическими и тромболитическими свойствами как при внутривенном введении [1], так и при наружной аппликации на поверхностные тромбы [2]. Исследования проводились на крупных сосудах, преимущественно венах, однако, выявленные физико-химические и биологические свойства, способность лонголитина проникать сквозь тканевые структуры позволили предположить, что его протеолитический комплекс может расщеплять и белые тромбоцитарные тромбы, формируемые преимущественно в артериях, и микротромбы в системе микроциркуляции, и фибриновые отложения в сосудах и полостях и, возможно, гематомы.

Подкожные гематомы – это разлившаяся под кожей кровь при повреждении мелких сосудов в результате ушиба, удара [3], при инъекциях, после операций, в том числе, косметических [4]. Кроме болезненности, они доставляют много эстетических неудобств, поэтому способы их скорейшего удаления очень востребованы.

В данной работе изучали действие лонголитина на поверхностные подкожные гематомы, образуемые введением небольшого объема (0,05 мл) собственной крови животного (крысы) под кожу над грудиной (грудные гематомы) и в 2-х точках по бокам туловища и в надпаховой области справа и слева (боковые гематомы). Гематома представляла собой растекшуюся массу свернувшейся крови в полости под кожей, хорошо просматривалась как синюшное пятно различной формы и размера. Лонголитин (30 мг/мл+10 Ед. гепарина/мл) в растворе глицерина наносили на поверхность гематомы в течение 7 дней. Определяли скорость и время рассасывания гематомы в 3-х группах животных: опытная группа (1), где использовали гепарин с лонголитинном, и двух контрольных: (2), где использовали только гепарин, и (3), где гематомы смазывались только глицерином.

**Результаты.** Вероятно, анатомические особенности областей формирования гематом [5], несмотря на одинаковый объем крови,

обусловили 2 разные картины проявившихся гематомных пятен. В области груди кровь растекалась широко под эпидермисом, и гематомы выглядели как широкие пятна большого размера (800–300 мм<sup>2</sup>), а в надпаховых областях кровь, по всей вероятности, протекала в глубину, и в результате на поверхности образовывались пятна гораздо меньшего размера (250 – 50 мм<sup>2</sup>). Размеры гематом определяли как произведение двух взаимно перпендикулярных диаметров. В течение 7 сут каждый день визуально определяли размеры гематомы ко времени исчезновения гематомного пятна.

Таблица 1. Скорость рассасывания гематом (мм<sup>2</sup> /день) у крыс опытной и контрольных групп.

Размеры гематом / Группы	Грудные	Боковые
	300-800 мм <sup>2</sup>	50-250 мм <sup>2</sup>
I - лонголитин+гепарин n=41	79±12	27±4
II - гепарин n= 32	72±13	13,2±3,5 ρ<0,01
III - глицерин n= 7	69±11	13,4±4 ρ<0,05

Из данных, представленных в таблице, видно, что скорость рассасывания определялась размерами гематомы и областью ее расположения во всех трех группах. В области груди она была максимальной по сравнению с боковыми гематомами и примерно одинаковой. Это означает, что ни протеолитическое, ни фибринолитическое, ни тромболитическое действие лонголитина не ускоряет рассасывание такого рода гематомы, которая представляет собой тонкое распластывание компонентов крови (фибрина, форменных элементов) вдоль нижних слоев эпидермиса. Здесь скорость рассасывания определяется, вероятно, исходно структурно-биохимическими факторами, взаимодействием тканевых структур.

Однако для боковых гематом, уходящих в глубину от эпидермиса и более напоминающих сгусток крови, лонголитин проявил свое фибринолитическое действие, и, как видно из таблицы, скорость лизиса здесь в опытной группе в 2 раза больше, чем в двух контрольных группах. Гепарин не ускорял скорость рассасывания. Время рассасывания также различалось только для боковых гема-

том. В опытной группе оно было  $2,6 \pm 0,4$  дня, в двух контрольных составляло  $3,4 \pm 0,4$  (группа с гепарином) и  $3,7 \pm 0,6$  (группа с глицерином). Таким образом, в различных анатомических областях образуются разные по размеру и биологическим свойствам гематомы. Большие гематомы, распластанные под эпидермисом, рассасываются с большей скоростью, чем маленькие глубинные. Лонголитин в наших условиях ускорял рассасывание только глубинных гематом, не влияя на большие поверхностные. Гепарин не оказывал влияния на процесс.

### Список литературы

1. Подорольская Л.В., Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н. и др. Влияние комплекса лонголитин-гепарин на гемостаз, фибринолиз и тромболизис. Усп. мед. микол. 2013; 10: 371-3.
2. Подорольская Л.В., Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н. и др. Лонголитин – тромболитический препарат для наружного применения. Усп. мед. микол. 2006; 7: 210-1.
3. Fucunaya N, Koaygama T, Konoshi Y et all. Spontaneous rupture of superficial femoral artery. Ann Vasc Dis. 213; 6(2): 212-4
4. Neto GC, Rodriguez Formendez DE, Boles M. Reducing the incidence of hematomas in cervicofacial rhytidectomy: new external quilting sutures and other ancillary procedures. Aesthetic Plast Surg. 2013; 37(5): 1034-9
5. Lewitton S1, Babaev A. Superficial femoral artery stent fracture that led to perforation, hematome and deep venous thrombosis. J Invasive Cardiol. 2008; 20(9): 479-81.

## ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ПРОТЕИНАЗ С ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Шаркова Т.С., Матвеева Э.О., Кураков А.В., Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Егоров Н.С.*  
*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

Актуальными средствами терапии тромбозов представляются протеолитические ферменты микромицетов, обладающие как высокой фибринолитической активностью, так и способностью к активации некоторых белков системы гемостаза путем их ограниченного протеолиза [1-4]. Поскольку спектр и свойства протеиназ, образуемых микромицетами, зависит как от таксономического положения организма, так и принадлежности видов или штаммов к конкретной экологической группе, то важно представлять особенности ферментативной активности и субстратную специфичность протеиназ у микромицетов разных экологических групп [5, 6].

Объектами исследования служили 83 штамма микромицетов разных групп из коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ имени М.В. Ломоносова, выделенные в чистую культуру из различных экотопов (почв, растительных остатков, поверхности растений, насекомых). Штаммы выращивали в условиях глубинного культивирования на орбитальных качалках в качалочных колбах объемом 750 мл со 100 мл питательной среды при 28 °С и 200 об/мин. Посевной материал получали смывом спор микромицетов с агаризованной среды Чапека в среду, содержащую сусло, глюкозу и пептон [7], с дальнейшим культивированием в течение 2 сут. По истечении этого периода культивирования посевной материал в объеме 3 мл переносили в ферментационную среду состава (в %): глюкоза – 3,0, глицерин – 7,0, гидролизат рыбной муки – 0,5,  $\text{NaNO}_3$  – 0,2,  $\text{MgSO}_4$  – 0,1.

Активность протеолитических ферментов определяли в культуральной жидкости после отделения биомассы фильтрованием. Плазминоподобную активность (на прогретых фибриновых пластинах) и активность активаторов плазминогена (на непрогретых фибриновых пластинах) штаммов определяли по модифицированному методу Аструпа – Мюллертца – Лансена и выражали в условных единицах (усл. ед.) на 1 мл культуральной жидкости [8].

Для получения препарата протеиназ проводили высаливание белков культуральной жидкости сульфатом аммония до степени

насыщения 0,8 с последующими центрифугированием, диализом и лиофильным высушиванием. Электрофоретическое разделение белков полученного препарата проводили в ПААГ по методу Дэвиса в Трис-глициновом буфере, pH 8.3.

Скрининг продуцентов протеиназ среди представителей отдела Ascomycota (*Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, *Gliocladium*, *Clonostachys*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Lecanicillium*, *Pochonia*, *Acremonium*, *Humicola*, *Aspergillus*, *Neosartoria*, *Talaromyces*, *Eurotium*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Oidiodendron*, *Arthrotrichum*, *Trichothecium*) и отдела Zygomycota (*Absidia*, *Mucor*, *Umbelopsis*, *Cunningamella*). Среди них были виды типичных сапротрофных микромицетов, обитающие в почвах и на растительных остатках, такие как *Humicola grisea*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, представители родов *Penicillium*, *Talaromyces*, *Gliocladium*, *Clonostachys*, *Ulocladium*, *Absidia*, *Mucor*, *Umbelopsis*, *Doratomyces*, *Cunningamella*. В отобранную выборку входили также грибы, характерные для фитопланы и потенциальные фитопатогены – родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* и энтомопатогенные виды родов *Aspergillus*, *Beauveria*, *Cunningamella*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium*, *Trichothecium* (табл.).

В результате проведенного скрининга продуцентов протеиназ с фибринолитической (плазминоподобной и активаторной к плазминогену) активностью среди микроскопических грибов разных экологических групп было показано, что энтомопатогенные микромицеты по сравнению с сапротрофами, потенциальными фитопатогенами и эпифитами, секретировали протеиназы с более высокой фибринолитической активностью. Наиболее выраженная фибринолитическая активность была установлена у энтомопатогенных микромицетов – представителей родов *Aspergillus* (100% исследованных культур), *Beauveria* (100% исследованных культур), *Penicillium* (100% исследованных культур) и *Tolypocladium* (100% исследованных культур).

У представителей родов *Paecilomyces* и *Trichothecium* исследуемая активность была выражена в меньшей степени (67 и 34% исследованных культур, соответственно). Как видно из таблицы, представители всех указанных родов, проявивших фибринолитическую активность, за исключением *Beauveria* и *Tolypocladium* обладали лишь одним вариантом фибринолитической активности – плазминоподобной. Штаммы микромицетов родов *Beauveria* и *Tolypocladium* наряду с плазминоподобной проявляли и активаторную к плазминогену активность.

Таблица. Представители микромицетов, выделенные из насекомых

Отряд насекомых, из которых выделены микромицеты	Род микромицетов	Вариант проявляемой фибринолитической активности
Чешуекрылые	<i>Aspergillus</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Trichotecium</i>	Плазминоподобная
Тараканообразные	<i>Aspergillus</i>	Плазминоподобная
	<i>Cunningamella</i>	-*
Двукрылые	<i>Aspergillus</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Penicillium</i>	Плазминоподобная
Прямокрылые	<i>Mucor</i>	-
Жесткокрылые	<i>Beauveria</i> , <i>Tolypocladium</i>	Плазминоподобная и активаторная к плазминогену

\* «-» – активность отсутствовала

При дальнейшем изучении энтомопатогенных микромицетов родов *Beauveria* и *Tolypocladium* были отобраны штаммы *B. bassiana* 1, *B. bassiana* 2, *T. inflatum* k1, обладающие довольно существенной активаторной к плазминогену активностью (132,5, 200.0 и 163,7 усл. ед./мл соответственно). Выраженная активность этих протеолитических ферментов у энтомопатогенных и хищных микромицетов может быть обусловлена их участием в процессах патогенеза беспозвоночных. Наибольшие значения плазминоподобной и активаторной к плазминогену активности проявил штамм *T. inflatum* k1. Показано, что удельная активаторная к плазминогену активность *T. inflatum* k1 на 20% выше плазминоподобной активности.

Из культуральной жидкости *T. inflatum* k1 получен препарат внеклеточных белков. В результате препаративного электрофореза в ПААГ были обнаружены две протеиназы с активаторной к плазминогену активностью, но различающиеся по способности гидролизовать фибрин. Они могут быть перспективными в качестве средства для лечения тромбоэмболических заболеваний.

Таким образом, штаммы энтомопатогенных микромицетов по сравнению с сапротрофами и потенциальными фитопатогенами обладают внеклеточными протеиназами с более высокой фибринолитической (плазминоподобной и активаторной к плазминогену) активностью. У всех изученных штаммов микромицетов, способных активировать плазминоген, также наблюдали проявление плазминоподобной активности. У одного из наиболее активных штаммов – *T. inflatum* k1 – удельная активаторная к плазминогену активность протеиназы была больше соответствующей величины плазминоподобной активности. В препарате внеклеточных белков *T. inflatum* k1 были обнаружены две протеиназы, активирующие плазминоген. Полученные результаты дают основание считать перспективными разработки нового противотромботического ферментного препарата на основе внеклеточных протеиназ *T. inflatum* k1.

### Список литературы

1. Kumar A, Pulicherla KK, Ram KS, Rao KRSS. Evolutionary trend of thrombolytics. *Int J Biosci Biotechnol.* 2010; 2(4): 51–68.
2. Schirasaka N, Naitou M, Okamura K. et al. Purification and characterization of a fibrinolytic protease from *Aspergillus oryzae* KSK-3. *Mycoscience.* 2012; 53(5): 354-64.
3. Kotb E. Activity assessment of microbial fibrinolytic enzymes. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013; 97(15): 6647-65.
4. Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г. и др. Воздействие внеклеточных протеаз микромицетов на белки системы гемостаза. *Биоорганическая химия.* 2014.; 40(6): 688-94.
5. Microbiological synthesis of proteolytic enzymes possessing fibrinolytic activity. *Thrombosis and Thrombolysis.* Ed. Chazov E.I., Smirnov V.N. New York&London: Consultants Bureau, 1986: 197-221.
6. Ландау Н.С., Кураков А.В., Гуликова О.М. и др. Экстрацеллюлярные протеиназы микромицетов с фибринолитическими и антикоагулянтными свойствами. *Микробиология.* 1998; 67(2): 215-20.
7. Батомункуева Б.П., Егоров Н.С. Выделение, очистка и разделение комплексного препарата внеклеточных протеиназ *Aspergillus ochraceus* с фибринолитическими и антикоагулянтными свойствами. *Микробиология.* 2001; 70(5): 602-6.
8. Ландау Н.С., Гуликова О.М., Егоров Н.С. Особенности контроля синтеза протеиназ с плазминоподобной и активаторной активностями у морских бактерий. *Микробиология.* 2000; 69(2): 185-90.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ И ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Ветчинкина Е.П.<sup>1</sup>, Широков А.А.<sup>1</sup>, Бучарская А.Б.<sup>2</sup>,  
Наволокин Н.А.<sup>2</sup>, Прилепский А.Ю.<sup>1</sup>, Буров А.М.<sup>1</sup>,  
Маслякова Г.Н.<sup>2</sup>, Никитина В.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений  
и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup>Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Разработка новых методов лечения онкологических заболеваний одна из самых приоритетных задач здравоохранения, особенно это касается внедрения высокоэффективных нетоксичных природных лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами. Наиболее перспективными в этом плане являются макромицеты, содержащие вещества с широким спектром биологического действия. Представители данной группы грибов *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (шиитакэ) и *Ganoderma lucidum* Curtis: Fr. (трутовик лакированный) ценятся как высококачественные съедобные грибы и источник биологически активных и лекарственных веществ, нашедших широкое применение в народной медицине стран Востока, пищевой и фармацевтической промышленности [1].

Полученные из этих культур препараты, показали себя как незаменимые лекарственные средства, обладающие противовоспалительными, противоаллергенными, иммуностимулирующими, гепатопротекторными, антибиотическими, антиоксидантными, противовирусными свойствами, кроме того они не оказывают токсического действия на организм человека [2, 3].

Препараты из подобного природного сырья могут использоваться не только для профилактики развития опухолей, но и защиты нормальных клеток при проведении стандартного курса химио- и радиотерапии. Поскольку распад опухоли сопровождается обширным некрозом и следующим за ним воспалением, то действие противоопухолевой композиции может быть расширено за счет включения противовоспалительных, антимикробных, иммуностимулирующих и других эффектов.

Цель исследования – выявление противоопухолевой активности грибных экстрактов из вегетативного мицелия и плодовых тел *L. edodes* и *G. lucidum* в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, установление

их влияния на клеточные культуры ряда опухолей человека, изучение динамики роста перевиваемых опухолей, оценка возможного цитотоксического действия.

**Материалы и методы.** В работе изучали противоопухолевое действие экстрактов из вегетативного погруженного мицелия *L. edodes* (штамм F-249) и *G. lucidum* (штамм 1315), а также плодовых тел трутовика лакированного, выращенных на поверхности мицелия при погруженном культивировании. Противоопухолевую активность выявляли на белых беспородных крысах самцах массой  $160 \pm 20$  г, которые были случайным образом разделены на три опытные группы и группу сравнения (по 4 особи в каждой). Животным было имплантировано подкожно в области лопатки по 0,5 мл 25% взвеси опухолевых клеток штамма рака почки РА в растворе Хенкса. Штамм опухоли был получен из банка опухолевых штаммов ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Через 72 ч после перевивки крысам опытных групп ежедневно в течение 10 дней перорально вводили по 1 мл исследуемых грибных экстрактов, животным из группы сравнения (контроль) по 1 мл физ. раствора. Ежедневно, начиная с 5-го дня после перевивки, проводили измерение объема опухоли. Объем опухоли высчитывали по формуле:  $V = A \times B \times C$ , где А – ширина, В – толщина, С – высота опухоли. Измерения проводили электронным штангенциркулем каждые день от начала эксперимента [4]. На 14-е сут после перевивки (через сутки после последнего введения исследуемых растворов) животных выводили из исследования путем декапитации. Для дальнейшего исследования производили забор образцов ткани органов, опухоли.

Для изучения патоморфоза опухоли и структурных изменений в органах применяли морфологические и морфометрические методы с использованием стандартных гистологических методик окраски гематоксилином-эозином. Учитывали наличие дистрофических и некробиотических изменений, цитоморфометрические показатели (диаметр раковой клетки, соотношение диаметров раковой клетки и её ядра, ядерно-цитоплазматический индекс). Морфометрическое исследование проводили с помощью медицинского микровизора проходящего света  $\mu$ Vizo-101 (ЛОМО) [5].

Эксперименты на животных выполняли в соответствии с международными этическими нормами [6].

Кроме того, исследования по морфометрии опухолевых клеток проводили с помощью автоматизированной микроскопической системы Ariol SL50 (Genetix, Великобритания). Сканирование стекол осуществляли при увеличении 200 $\times$ . Подсчет площади ядер

и цитоплазмы выполняли с применением программного модуля MultiStain системы Ariol.

Работа выполнялась на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ФГБУН ИБФРМ РАН.

Исследования по определению цитотоксичности экстрактов грибов *L. edodes* и *G. lucidum* проводили на клеточных линиях A549 (легочная аденокарцинома) и HEp-2 (эпидермоидная карцинома гортани). Клетки растили в 96-луночном планшете до образования 70% монослоя: клеток A549 в течение суток, а клеток HEp-2 – двух суток. Посадочная доза около 50000 клеток на лунку в 200 мкл среды. Лиофильно высушенные экстракты грибов разводили культуральной средой со смесью антибиотиков пенициллин/стрептомицин (60 мг/мл), титровали двойными разведениями и инкубировали сутки. Дыхательную активность определяли по МТТ-тесту. МТТ-реагент разводили в концентрации 1 мг/мл на PBS, старую среду сливали, добавляли 100 мкл МТТ и оставляли на 1 ч в инкубаторе, после чего сливали МТТ, добавляли 200 мкл DMSO и инкубировали еще 10 мин. Данные получали на планшетном спектрофотометре при  $\lambda=540$  нм, с бланком на 690 нм. Дыхательную активность контроля принимали за 100%.

Статистическую обработку результатов проводили в программе «SPSS 20.0» методами медико-биологической статистики с вычислением средней и стандартной ошибки, значимость различий при параметрическом распределении определяли при помощи *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок. Отличия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

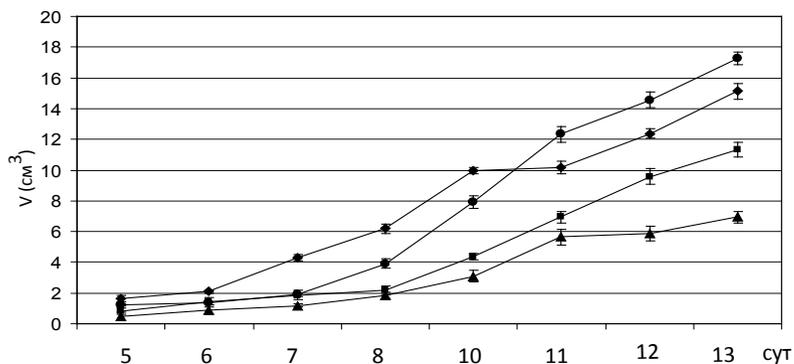
**Результаты и обсуждение.** Масса опухоли на 14-й день после перевивки достоверно различалась в 1-й опытной группе крыс, получавшей экстракт шиитакэ (более чем в 2 раза), по сравнению с контрольной группой, которой вместо экстракта грибов вводили физ. раствор (таблица). Таким образом, было отмечено достоверное самостоятельное торможение роста опухоли на 14-е сутки опыта под влиянием водорастворимых веществ мицелия *L. edodes*.

Начиная с 6-го дня после перевивки, отмечали задержку роста объема опухоли в 1 и 3 опытной группах, под влиянием экстрактов грибов (рис. 1). Вероятно, препараты из погруженного вегетативного мицелия штамма F-249 *L. edodes* и *G. lucidum* штамм 1315 обладают самостоятельным противоопухолевым действием.

Для подтверждения данного предположения проводили гистологические исследования опухолевых тканей. Установили, что в группе

Таблица. Изменение массы опухоли РА под действием экстрактов базидиомицетов.

Группы	Исследуемый экстракт	Кол-во крыс	Выведение	Масса опухоли, (г)
Группа сравнения	физ. раствор (●)	6	14 сутки	15,74±2,36
1-я опытная группа	вегетативный мицелий <i>L. edodes</i> (▲)	6	14 сутки	6,49±2,37
2-я опытная группа	плодовое тело <i>G. lucidum</i> (◆)	6	14 сутки	14,24±0,71
3-я опытная группа	вегетативный мицелий <i>G. lucidum</i> (■)	6	14 сутки	10,04±1,55

Рис. 1. Рост объема опухоли РА (см<sup>3</sup>) под влиянием экстрактов грибов.

Группа крыс, получающих экстракт из вегетативного мицелия *G. lucidum* (■) ;  
из плодового тела *G. lucidum* (◆) ;  
из вегетативного мицелия *L. edodes* (▲) ;  
получающих физ. раствор (●) ;  
(контрольная группа).

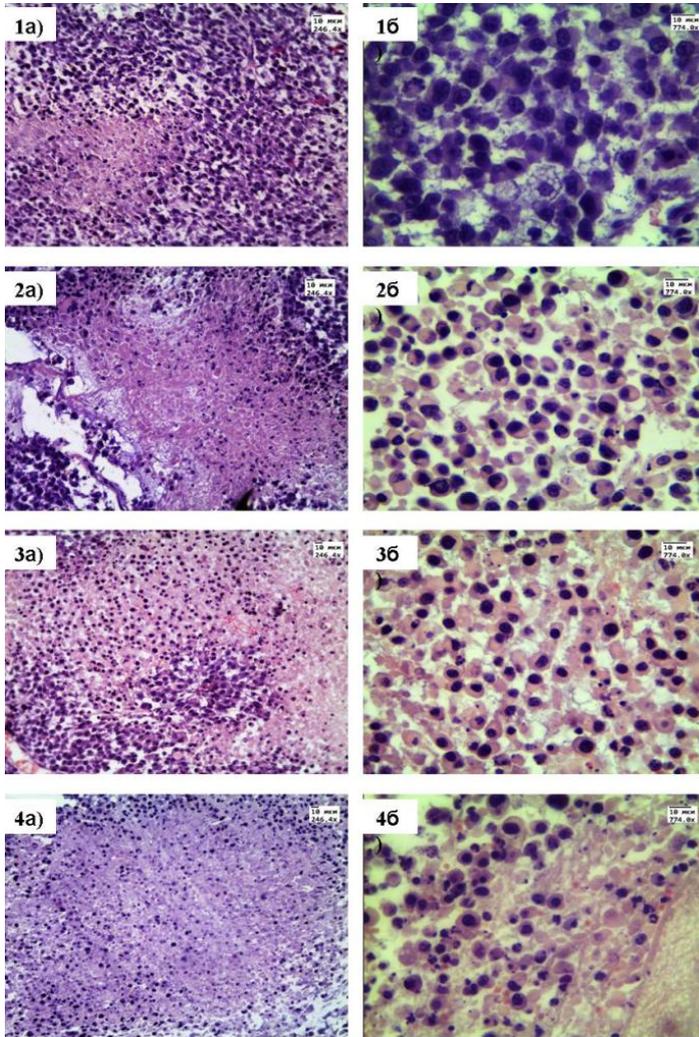


Рис. 2. Рак почки РА. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение: а) 246,4х, б) 774,0х; масштаб – 10 мкм.

1. Группа сравнения (контроль); 2. Группа 1 (после 10 дневного перорального введения экстракта из вегетативного мицелия *L. edodes*); №3. Группа 2 (после 10 дневного перорального введения экстракта из плодовых тел *G. lucidum*); 4. Группа 3 (после 10-дневного перорального введения экстракта из вегетативного мицелия *G. lucidum*).

сравнения опухоль представлена комплексом полиморфных клеток, которые располагаются в виде отдельных островков, разделенных прослойками рыхлой отечной соединительной ткани. Опухолевые клетки отличаются выраженным полиморфизмом, клетки опухоли существенно отличаются по своей форме и размерам.

Встречаются полигональные, овальные, округлые и веретеновидные клетки, среди которых много клеточных элементов, напоминающих по своему строению атипичные фибробласты. Ядра опухолевых клеток, их форма и размеры варьируют в зависимости от размеров и формы опухолевых клеток. Большинство ядер крупные, занимают большую часть клетки. Хроматин располагается в виде нежной сетки. Цитоплазма опухолевых клеток отличается резко выраженной базофилией. В строме опухоли и по границе с опухолью много новообразованных кровеносных сосудов типа капилляров. Среди отечной соединительной ткани много лимфоидных клеток. Опухоль окружена широкой зоной плотной фиброзной ткани, ближе к опухоли по типу грануляционной, в которой также много лимфоидных клеток. Некрозы составляют 10–20% от площади среза, митозы до 3% (рис. 2: 1а, 1б).

В 1-й опытной группе капсула опухоли остается неизменная, некрозы в опухоли составляют от 50 до 80 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями, лежат в основном отдельно друг от друга, а неизменные опухолевые клетки представлены только под капсулой опухоли, среди них отмечаются единичные митозы (рис. 2: 2а, 2б).

Во 2-й опытной группе капсула опухоли фиброзная, утолщена, полнокровна, слабо инфильтрирована единичными нейтрофилами, лимфоцитами. Некрозы в опухоли составляют от 30 до 50 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями, местами неизменные и такие клетки располагаются ближе к капсуле (Рис. 2: 3а, 3б).

В 3-й опытной группе капсула опухоли неизменная, некрозы в опухоли составляют от 50 до 90 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями, отмечаются признаки апоптоза в опухолевых клетках (фрагментация ядра, при сохраненной цитоплазме). Неизменные опухолевые клетки сохраняются только под капсулой опухоли, среди них отмечаются единичные митозы (Рис. 2: 4а, 4б).

Исследование морфометрии опухолевых клеток с применением автоматизированной микроскопической системы Ariol, показало, что ядерно-цитоплазматическое соотношение в тканях опухоли группы сравнения было высоким, это является характерным признаком злокачественного новообразования. В опухолевых тканях

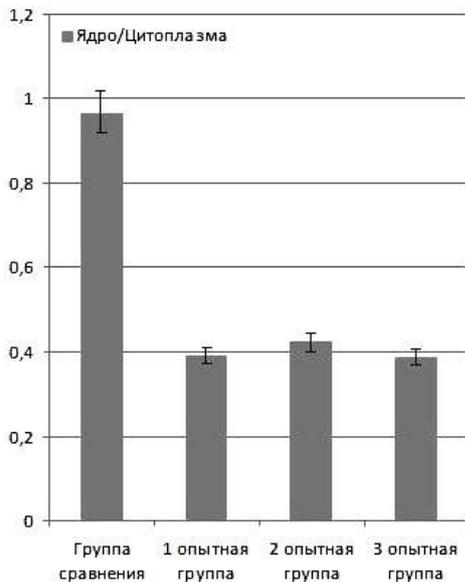


Рис. 3. Ядерно-цитоплазматическое соотношение в опухолевых клетках экспериментальных животных, подсчитанное с применением автоматизированной микроскопической системы Ariol SL50.

экспериментальных групп животных, которым вводили экстракты из мицелия и плодовых тел базидиомицетов, выявлено значительное уменьшение ядерно-цитоплазматического соотношения за счет уменьшения площади ядер в опухолевых клетках и увеличения площади цитоплазмы (рис. 3).

Данный эффект является признаком лечебного патоморфоза опухоли под влиянием экстрактов грибов.

Таким образом, под действием водных экстрактов из вегетативного мицелия *L. edodes* и *G. lucidum*, но не из плодовых тел, выявили выраженное замедление роста перевитой опухоли почки РА, отмечали развитие дистрофических изменений опухолевых клеток и некротических процессов в опухоли. Анализ результатов показал, что экстракт погруженного вегетативного мицелия *L. edodes* обладал самостоятельным противоопухолевым действием, на 14-е сут экс-

перимента выявили значительное (более чем в 2 раза) торможение роста опухоли.

Определение цитотоксичности экстрактов грибов *L. edodes* и *G. lucidum* проводили на клеточных линиях А549 (легочная аденокарцинома) и НЕр-2 (эпидермоидная карцинома гортани). Для обеих линий концентрация всех экстрактов выше 20 мг/мл приводила скорее к некрозу, чем к апоптозу. Об этом свидетельствует почти полное отсутствие клеточного дыхания, связанное с лизисом основных внутриклеточных ферментов, а также данные микроскопического наблюдения, сделанные до проведения МТТ-теста.

Последующее уменьшение концентрации экстрактов индуцировало апоптоз в течение 24 ч. Клетки при больших концентрациях имели неизмененную форму при небольшом увеличении линейных размеров, были преимущественно адгезированы к подложке. При меньших концентрациях (<15 мг/мл) практически все клетки откреплялись от подложки и имели явные признаки апоптоза: уменьшение размера клетки, наличие апоптозных гранул, пикнолиз ядер. С дальнейшим уменьшением концентрации, доля жизнеспособных клеток увеличивалась. Можно предположить, что воздействие экстрактами в течение 48 или 72 ч привело бы к усилению цитотоксического действия.

Полученные результаты показали, что при использовании экстракта из вегетативного мицелия *L. edodes* полуметальная концентрация для клеток НЕр-2 (LC50) составляла порядка 2 мг/мл, а для А549 < 1 мг/мл. В случае экстракта из плодовых тел *G. lucidum* цитотоксический эффект достигался при концентрации 2 мг/мл и для клеток А549, и для НЕр-2. Экстракт из вегетативного мицелия *G. lucidum* обладал наименьшим цитотоксическим действием: для НЕр-2 LC50 – 7,5 мг/мл, для А549 – 5 мг/мл.

Очевидно, что клеточная линия А549 более чувствительна к воздействию грибных препаратов, особенно это заметно при использовании экстракта из вегетативного мицелия *L. edodes* (рис. 4). Наибольшую цитотоксичность в отношении клеточной линии НЕр-2 показали экстракты из вегетативного мицелия шиитаке и плодовых тел трутовика лакированного, наименьшую – из вегетативного мицелия *G. lucidum* (рис. 5).

Таким образом, проведенные исследования выявили самостоятельное противоопухолевое действие водных экстрактов из вегетативного погруженного мицелия базидиомицетов *L. edodes* и *G. lucidum*, а также плодовых тел трутовика лакированного. Стоит отметить, что разные экстракты по-разному действовали на тот

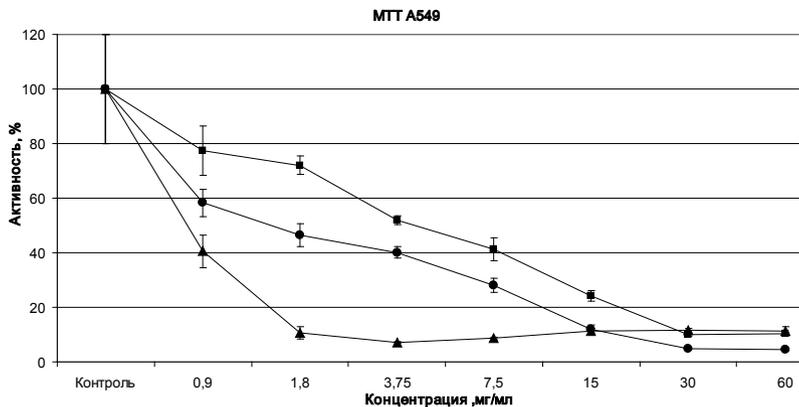


Рис. 4. Цитотоксичность (LC50) грибных экстрактов по отношению к клеточной линии А549.

Вегетативный мицелий *G. lucidum* (■) ;  
 плодовое тело *G. lucidum* (◆) ;  
 вегетативный мицелий *L. edodes* (▲) .

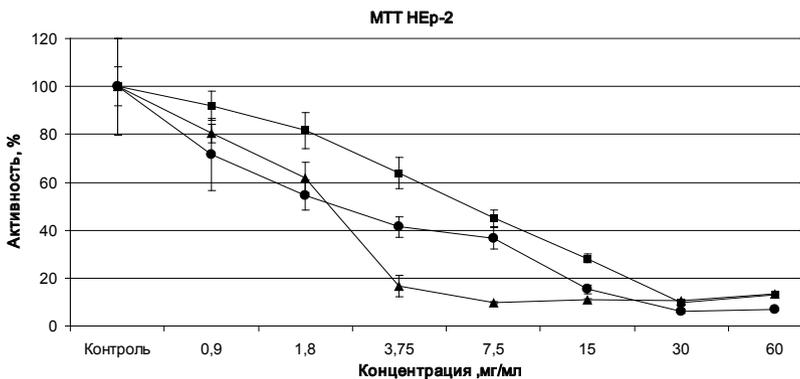


Рис. 5. Цитотоксичность (LC50) грибных экстрактов по отношению к клеточной линии НЕР-2.

Вегетативный мицелий *G. lucidum* (■) ;  
 плодовое тело *G. lucidum* (◆) ;  
 вегетативный мицелий *L. edodes* (▲) .

или иной вид опухоли. Противоопухолевая активность в отношении рака почки (РА) проявлялась у экстрактов из вегетативного мицелия шиитаке и трютовика, но не из плодовых тел. Наибольшее цитотоксическое действие на клетки легочной аденокарциномы (A549) и эпидермоидной карциномы гортани (HEp-2) проявляли экстракты из плодового тела *G. lucidum* и вегетативного мицелия шиитаке. Противоопухолевая активность экстрактов погруженного мицелия *L. edodes* была высока по отношению к тканям опухоли всех трех видов рака.

### Список литературы

1. Mizuno T. Food Reviews Intern. 1995; 11: 111–28.
2. Феофилова Е.П. Иммунопатол., аллергол., инфектол. 2004; 1: 27–33.
3. Bender S. et all. Int. J. Medicin Mushrooms. 2001; 3( 2–3): 118.
4. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005: 832 с.
5. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990: 384 с.
6. <http://conventions.coe.int/treaty/Commun/QueVoulezVous.asp?CL=RUS&NT=123>

## СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКАНОВ В КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ НА ОСНОВЕ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Жилинская Н.В., Ларина Е.В.

Научно-исследовательский институт питания, Москва  
Московский государственный университет пищевых  
производств, Москва

Базидиальные грибы являются ценным источником активных веществ, обладающих широким спектром биологического действия. Традиционно базидиомицеты использовали для лечения таких заболеваний как рак, гипертония, диабет, воспаления различной этиологии и др. Исследователями установлено, что одними из уникальных веществ, входящих в состав, как плодовых тел, так и вегетативного мицелия грибов, и отвечающих за их активность, являются глюканы, в основном  $\beta$ -формы. Данные высокомолекулярные соединения обладают противоопухолевой, иммуностимулирующей, противомикробной, антиоксидантной активностью, селективно снижают LDL [9]. Наиболее изученными в этой области являются глюканы таких высших грибов, как *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor* [1, 3, 10, 11].

В странах Азии, например, Японии, Китае, препараты на основе базидиомицетов получили признание официальной медицины и нашли широкое применение. Однако, в России производство и распространение БАДов на основе базидиомицетов, основным действующим компонентом которых, как утверждают производители, являются активные полисахариды, в том числе и глюканы, только начинает налаживаться. В связи с тем, что количественный состав глюканов может меняться в зависимости от питательных сред и условий культивирования, является актуальным вопрос об определении содержания количества глюканов в БАДах грибного происхождения.

Для исследования были отобраны 4 образца коммерческих препаратов на основе высших грибов:

*Lentinula edodes* (шиитакэ) – по мнению ученых, одним из наиболее действенных компонентов данного гриба является  $\beta$ -глюкан – лентинан, который увеличивает скорость созревания и литическую активность макрофагов, активирует лейкоциты, стимулирует выработку ингибиторов опухолей (цитокинов, TNF, IL-1) [13]. В зависимости от способа культивирования количество полисахаридов

в сухих грибах находится в пределах 35 -45%. Шиитаке рекомендуют при лечении таких заболеваний как злокачественные или доброкачественные новообразования, бактериальные инфекции, вирусные заболевания, иммуностимулирующая терапия [8, 13, 14];

*Cantharellus cibarius* (лисичка обыкновенная) – содержит  $\beta$ -глюканы, которые активируют специфические лейкоциты, в том числе эозинофилы. Препараты на основе данного вида базидиомицетов проявляют антиоксидантное, иммуностимулирующее, противогипоксическое действие, используются при лечении заболеваний печени различной этиологии, кроме того они известны как высокоэффективные средства при борьбе с гельминтами [5, 6, 12];

*Tremella fuciformis* (снежный гриб) – рядом авторов установлено, что полисахариды данного вида высших грибов повышают эффективность индукции интерферона, образование интерлейкина, стимулируют фагоцитоз, размер и продолжительность жизни макрофагов. Препараты снежного гриба проявляют антиоксидантную, иммуностимулирующую, противоопухолевую активность, оказывают гипогликемический эффект у больных сахарным диабетом, помимо этого в доклинических экспериментах доказана способность этого гриба снижать уровень холестерина в крови. Количество полисахаридов в сухих грибах может достигать 41 %, в зависимости от условий культивирования [2, 4];

*Auricularia auricula-judae* (Муэр) – показано, что полисахариды и глюканы данного вида обладают мощным противоопухолевым и иммуностимулирующим действием, гипогликемическими и тромболитическими эффектами [7, 15, 16].

Определение содержания глюканов,  $\alpha$ - и  $\beta$ -глюканов проводили в соответствии с процедурами, разработанными для наборов образцов «Грибы и дрожжи. Бета-глюкан» K-YBGL 09/13 ([www.megazyme.com](http://www.megazyme.com)). Полученные результаты представлены в таблице 1.

Из приведенных результатов видно, что общее содержание глюканов в исследуемых образцах колеблется от 17,4 до 45,2 %. Во всех препаратах преобладают  $\beta$ -глюканы, являющиеся основными действующими компонентами данных БАДов, количество которых свыше 95 % от общего содержания глюканов.

Таблица. Содержание глюканов в образцах коммерческих препаратов на основе базидиомицетов

Препараты на основе	Содержание глюканов в мицелии, %	Содержание $\alpha$ -глюканов в мицелии, %	Содержание $\beta$ -глюканов в мицелии, %
<i>Lentinula edodes</i>	34,6	0,6	34,0
<i>Cantharellus cibarius</i>	19,4	0,3	19,1
<i>Tremella fuciformis</i>	17,4	0,5	16,9
<i>Auricularia auricula-judae</i>	45,2	1,7	43,5

### Список литературы

1. Bak WC, Park JH, Park YA, Ka KH. Determination of glucan contents in the fruiting bodies and mycelia of *Lentinula edodes* cultivars. *Mycobiology*. 2014; 42(3): 301-4.
2. Cho EJ, Hwang HJ, Kim SW et al. Hypoglycemic effects of exopolysaccharides produced by mycelial cultures of two different mushrooms *Tremella fuciformis* and *Phellinus baumii* in ob/ob mice. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007; 75(6): 1257-65.
3. Ferreira IC, Heleno SA, Reis FS et. all. Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. *Phytochemistry*. 2014. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.10.011.
4. Gusman JK, Lin CY, Shih YC. The optimum submerged culture condition of the culinary-medicinal white jelly mushroom (*Tremellomycetes*) and its antioxidant properties. *Int J Med Mushrooms*. 2014; 16(3): 293-302.
5. Han XQ, Li WJ et al. Structure characterization and immunocompetence of a glucan from the fruiting bodies of *Cantharellus cibarius*. *J Asian Nat Prod Res*. 2013; 15(11): 1204-9.
6. Khalili M, Ebrahimzadeh MA, Omrani F, Karami M. Antihypoxic activities of the golden Chanterelle mushroom, *Cantharellus cibarius* (higher Basidiomycetes). *Int J Med Mushrooms*. 2014; 16(4): 339-44.
7. Kho YS, Vikineswary S, Abdullah N. Antioxidant capacity of fresh and processed fruit bodies and mycelium of *Auricularia auricula-judae* (Fr.) Quél. *J Med Food*. 2009 12(1); 167-74.

8. Kim SP, Park SO, Lee SJ. A polysaccharide isolated from the liquid culture of *Lentinus edodes* (Shiitake) mushroom mycelia containing black rice bran protects mice against a *Salmonella* lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Agric Food Chem.* 2013; 61(46): 10987-94.
9. Lee DH, Kim HW. Innate immunity induced by fungal  $\beta$ -glucans via dectin-1 signaling pathway. *Int J Med Mushrooms.* 2014; 16(1): 1-16.
10. Liu Y, Zhang J, Tang Q et. all. Physicochemical characterization of a high molecular weight bioactive  $\beta$ -D-glucan from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Carbohydr. Polym.* 2014; 101: 968-74.
11. Price LA, Wenne CA, Sloper DT. Role for toll-like receptor 4 in TNF-alpha secretion by murine macrophages in response to polysaccharide Krestin, a *Trametes versicolor* mushroom extract. *Fitoterapia.* 2010; 81(7): 914-9.
12. Queiros B, Barreira JC, Sarmiento AC, Ferreira IC. In search of synergistic effects in antioxidant capacity of combined edible mushrooms. *Int J Food Sci Nutr.* 2009; 60: 160-72.
13. Vetvicka V, Vetvickova J. Immune-enhancing effects of Maitake (*Grifola frondosa*) and Shiitake (*Lentinula edodes*) extracts. *Ann Transl Med.* 2014; 2(2): 14.
14. Wang J, Wang HY, Xia XM. Inhibitory effect of sulfated lentinan and lentinan against tobacco mosaic virus (TMV) in tobacco seedlings. *Int J Biol Macromol.* 2013; 61: 264-9.
15. Xu S, Xu X, Zhang L. Branching structure and chain conformation of water-soluble glucan extracted from *Auricularia auricula-judae*. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(13): 3498-3506.
16. Xu S, Xu X, Zhang L. Effect of heating on chain conformation of branched  $\beta$ -glucan in water. *J Phys Chem. B.* 2013; 117(28): 8370-7.

## ОБРАЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРОВ БИОСИНТЕЗА СТЕРОЛОВ КУЛЬТУРОЙ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *PLEUROTUS ERYNGII*

Тренин А.С.<sup>1</sup>, Бычкова О.П.<sup>1</sup>, Цвигун Е.А.<sup>1</sup>, Джавахян Б.Р.<sup>2</sup>,  
Тюрин А.П.<sup>1</sup>, Краснопольская Л.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Микробные метаболиты – ингибиторы биосинтеза стеролов (ИБС) обладают выраженной биологической активностью и служат основой для разработки лекарственных препаратов, эффективных в лечении атеросклероза, рака, а также инфекций, вызываемых патогенными грибами [1]. Поиску ИБС в настоящее время уделяется самое пристальное внимание.

До недавнего времени основным источником природных ИБС считались несовершенные грибы. Проводимый в последние годы в ФГБНУ "НИИНА" широкий скрининг показал, что способность к образованию ИБС характерна также для ряда других организмов – мицелиальных бактерий – актиномицетов [2, 3], а также высших базидиальных грибов [4, 5]. Ловастатин, один из ИБС, обнаружен в плодовых телах 14 видов базидиомицетов, а также в мицелии 16 видов аскомицетов и базидиомицетов [6].

Проведенное в ФГБНУ "НИИНА" комплексное изучение разнообразных свойств базидиальных грибов *Kuehneromyces mutabilis* (опенок летний), *Flammulina velutipes* (опенок зимний), *Lentinus edodes* (шитаке) и *Ganoderma lucidum* (лакированный трутовик) позволило выявить у отдельных штаммов не только высокую антифунгальную активность, но также способность к образованию ИБС [4, 5, 7]. Отмеченная при этом способность отдельных штаммов к образованию ингибиторов как ранних, так и поздних этапов биосинтеза стеролов позволяет рассматривать базидиомицеты как ценный источник получения ИБС, перспективных для последующей разработки гипополипидемических и антифунгальных лекарственных препаратов [7, 8].

Исследования съедобного культивируемого базидиального гриба вешенка степная *Pleurotus eryngii* (D.C.) Quel. показали, что его метаболиты обладают противоопухолевыми, антиангиогенными, антиоксидантными свойствами, а также гипополипидемической активностью, выявленной в опытах *in vivo* [9]. Одним из объяснений гипополипидемического действия может служить обнаружение мето-

дом высокоэффективной жидкостной хроматографии ловастатина в плодовых телах и мицелии *P. eryngii* [6]. Более высокое содержание ловастатина было выявлено в плодовых телах.

**Целью исследования** – изучение антибиотической активности, а также способности к образованию ИБС базидиальным грибом *P. eryngii* при его выращивании в погруженной культуре.

**Материалы и методы.** В работе использовали штаммы *P. eryngii* из коллекции лаборатории биосинтеза биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА» и кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Хранение и выращивание культур на плотных средах и в условиях погруженной культуры, получение экстрактов и определение антибиотической активности проводили с использованием методов, описанных ранее [10].

Культуры выращивали методом погруженного культивирования в течение 5 – 9 сут, после чего проводили экстракцию биологически активных соединений из культуральной жидкости продуцентов этилацетатом, а из мицелия ацетоном или этанолом. Выявление способности штаммов к образованию ИБС проводили в специально разработанном тесте с использованием галофильной бактериальной культуры *Halobacterium salinarum*, обладающей мевалонатным путем биосинтеза стеролов и значительным сходством их биосинтеза с образованием холестерина в организме человека. ИБС в модели *H. salinarum* выявлялись как соединения, подавляющие рост тест-культуры [11].

**Результаты и обсуждение.** Изучение антибиотических свойств трех штаммов *P. eryngii* (№ 1, 2 и 10) показало, что вторичных метаболитов, проявляющих антимикробную активность, они не образуют. Экстракты к.ж. и вегетативного мицелия этих штаммов не подавляли роста тест-культур грамположительных (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) бактерий, дрожжей *Candida albicans*, или мицелиальных грибов *Aspergillus niger* и *Fusarium oxysporum*. Вместе с тем биологическое тестирование, проведенное с использованием в качестве модели *H. salinarum*, показало, что в экстрактах, полученных из культуральной жидкости указанных штаммов, содержатся биологически активные соединения – ИБС.

При использовании препаратов, полученных из культуральной жидкости, применяемых в 100 – 3000 ед. разведения, наблюдалась существенная задержка роста *H. salinarum*, а при использовании препаратов в 3 – 500 ед. разведения происходило полное подавление

роста тест-культуры. Наибольшим подавляющим эффектом обладали экстракты, полученные из культуральной жидкости штаммов №2 и 10, выделенные на 6–7 сут культивирования *P. eryngii*.

Для тех же двух препаратов (культуральной жидкости штаммов №2 и 10) было характерно резкое снижение подавляющего действия при добавлении в среду культивирования *H. salinarum* экзогенной мевалоновой кислоты (3 мМ). Аналогичный защитный эффект мевалоновой кислоты имел место при ее добавлении в среду культивирования *H. salinarum*, при изучении механизма действия ловастатина, подавляющего, как известно, ранние этапы биосинтеза стеролов и являющегося ингибитором 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА) редуктазы – ключевого фермента биосинтеза холестерина.

Указанное сопоставление позволяет сделать вывод о сходстве механизма действия соединений культуральной жидкости штаммов №2 и 10 и ловастатина. Таким образом, экстрагируемый в культуральной жидкости антибиотический комплекс штаммов №2 и 10, по-видимому, содержит ингибиторы ранних этапов биосинтеза стеролов, которые, подобно ловастатину, могут обладать гипополипидемическим действием.

У препаратов, полученных из мицелия указанных штаммов, а также у препаратов, полученных из культуральной жидкости и мицелия штамма №1, подобного защитного эффекта со стороны мевалоновой кислоты не наблюдалось. Вызываемое этими препаратами подавление *H. salinarum*, сохранялось и после добавления экзогенной мевалоновой кислоты. По-видимому, компоненты антибиотических комплексов указанных препаратов не содержат ингибиторов ранних этапов биосинтеза стеролов, а подавляют поздние (после образования мевалоната) этапы биосинтеза.

Снятие мевалонатом подавляющего действия изучаемых антибиотических комплексов, свидетельствует об их действии на ранние этапы биосинтеза стеролов. Тот факт, что подобное снятие наблюдалось лишь в отдельных случаях – при изучении отдельных штаммов, свидетельствует о том, что способность к образованию ингибиторов ранних этапов биосинтеза стеролов грибной культурой *P. eryngii* является специфической особенностью ее отдельных штаммов.

Выявление метаболитов, подавляющих ранние этапы биосинтеза стеролов, лишь у отдельных штаммов испытанных культур свидетельствует о том, что способность базидиомицетов к образованию ИБС является штаммоспецифической.

**Список литературы**

1. Тренин А.С. Микробные метаболиты – ингибиторы биосинтеза стеролов, их химическое разнообразие и особенности механизма действия. Биоорг. хим. 2013; 39(6): 633-57.
2. Тренин А.С. Микробные модели в поиске ингибиторов биосинтеза стеролов. Антиб. и химиотер. 2013; 58(7-8): 3-14.
3. Терехова Л.П., Галащенко О.А., Тренин А.С. и др. Выделение и изучение антибиотика ИНА-1132 (хлоротрицина), образуемого штаммом *Streptomyces baarnensis*. Антиб. химиотер. 2008; 53, (7-8): 3-7
4. Тренин А.С., Кац Н.Ю., Цвигун Е.А. и др. Базидиальные грибы *Kuehneromyces mutabilis*, *Flammulina velutipes* и *Lentinus edodes* как возможные продуценты ингибиторов биосинтеза стеролов. Усп. мед. микол. 2014; 12: 353-54.
5. Краснопольская Л.М., Кац Н.Ю., Тренин А.С. Индивидуальные метаболиты и экстракты погруженной культуры лекарственно-съедобного гриба *Lentinus edodes* с антибиотическими и гиполипидемическими свойствами. Сб.: «Экологические проблемы современного овощеводства и качество овощной продукции». М. 2014: 94-8.
6. Chen S-Y, Ho K-J, Hsieh Y-J et al. Content of lovastatin,  $\gamma$ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. Food Sci Technol. 2012; 47: 274-78.
7. Тренин А.С., Бычкова О.П., Краснопольская Л.М. Микробные метаболиты – ингибиторы биосинтеза стеролов, образуемые грибами-базидиомицетами. Научн. фонд «Биолог» 2014; 2: 35-6.
8. Тренин А.С., Бычкова О.П., Краснопольская Л.М. Культивируемые съедобные грибы как перспективный источник получения новых лекарственных препаратов – ингибиторов биосинтеза стеролов. В сб.: «Экологические проблемы современного овощеводства и качество овощной продукции». М. 2014: 102-6.
9. Alam N, Yoon KN, Lee JS et al. Dietary effect of *Pleurotus eryngii* on function and histology in hypercholesterolemic rats. Saudi J Biol Sci. 2011; 18: 403-9.
10. Краснопольская Л.М., Белицкий И.В., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. *Pleurotus djamo*: способы культивирования и антимикробные свойства. Микол. фитопатол. 2001; 35(1): 62-67.
11. Тренин А.С. Микробная модель *Halobacterium salinarum* для поиска ингибиторов биосинтеза стеролов. Антиб. химиотер., 2013; 58(5-6): 3-10.

## ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

<b>А</b>	395
Аак О.В. ....	258
Абдрашитов Ш.Г. ....	6, 7, 63, 76, 235, 237
Абдрашитова Л.Ш. ....	6, 7, 76
Абдильмянова Л.И. ....	380
Абдуназаров Т.А. ....	194, 195
Азизов И.С. ....	176
Азимова Ш.С. ....	380
Акмаева А.Р. ....	77
Аксенов И.В. ....	296
Акышбаева К.С. ....	8, 240
Александрова А.К. ....	11, 14
Александрова Е.И. ....	358
Алехова Т.А. ....	358
Алешкин А.В. ....	355
Алешкин В.А. ....	128, 196, 202, 355
Алиева Л.Н. ....	328
Альбанова В.И. ....	11
Ананьева Е.П. ....	348
Ананько Г.Г. ....	389
Андреева И.С. ....	320
Андреевкова О.А. ....	139, 143
Анисимова Е.А. ....	74
Анисимова Е.Н. ....	266
Антропова А.Б. ....	381
Арзуманян В.Г. ....	325
Афанасьев М.С. ....	196
Афанасьев С.С. ....	196, 199, 202, 355
Ахапкина И.Г. ....	381
Ахматов Э.А. ....	381
<b>Б</b>	
Базаев В.Т. ....	16
Байдик О.Д. ....	120
Байракова А.Л. ....	199, 202
Баранова Н.А. ....	458
Бардашева А.В. ....	384
Бардашева А.В. ....	389, 393,
Бахшалиева К.Ф. ....	328
Баязитова А.А. ....	129, 331
Бедоева З.Р. ....	16
Белахов В.В. ....	334
Беленюк В.Д. ....	266
Белова Н.В. ....	400, 407
Беломесяцева Д.Б. ....	260
Бержец В.М. ....	243, 249
Бибикова М.В. ....	413
Бизунова М.А. ....	248
Блинкова Л.П. ....	231, 249
Бобровская А.А. ....	414
Богомолова Т.С. ....	126, 167, 276
Богуцкая Н.К. ....	254
Борзова Ю.В. ....	258
Борисов А.Г. ....	266
Борисова О.Ю. ....	128
Босак И.А. ....	287, 288
Брагина Е.Е. ....	339
Братусь А.Е. ....	352
Буров А.М. ....	462
Бучарская А.Б. ....	462
Быкова Л.П. ....	181
Быстрова Е.В. ....	437, 442
Бычкова О.П. ....	374, 476
<b>В</b>	
Валиев А.Р. ....	297, 315
Валитов Р.Б. ....	377
Васильева А.В. ....	243, 249
Васильева Н.В. ....	167, 276, 287, 288
Вахрамеева Г.М. ....	442
Ветчинкина Е.П. ....	462
Власов П.С. ....	360
Возняк В.М. ....	310
Возняк М.В. ....	310
Воронкова М.С. ....	320
Врынчану Н.А. ....	229, 372

Высочина Г.И. ....	320	Емельянова О.Ю. ....	243
<b>Г</b>		Еремин С.А. ....	310
Гаджиева Н.Ш. ....	328	<b>Ж</b>	
Гаджимурадов М.Н. ....	17	Железнова Л.В. ....	251
Газарян О.Л. ....	38, 48, 52	Желтикова Т.М. ....	381
Ганковская Л.В. ....	231	Жилинская Н.В. ....	472
Гарабаджиу А.В. ....	334	<b>З</b>	
Гарас Н.Н. ....	254, 256	Загустина Н.А. ....	358
Гарасько Е.В. ....	180, 215	Зверев В.В. ....	231
Генинг М.Л. ....	271	Зверева Г.Н. ....	342
Герасимчук Е.В. ....	80, 81	Звонарева Е.С. ....	414, 434
Герасимчук М.Ю. ....	80, 81	Зорин А.Н. ....	74, 266
Гирич В.С. ....	217	<b>И</b>	
Гладько В.В. ....	80	Иванов А.А. ....	315
Глимнурова Л.М. ....	250	Иванова Н.Н. ....	338
Глухова Л.Б. ....	419, 423	Иванченко О.Б. ....	207
Глушко Н.И. ....	129, 205, 331	Игнатьева С.М. ....	126
Говорова Д.В. ....	122	Изосимова И.В. ....	296
Годовалов А.П. ....	181	Ильенок О.В. ....	120
Готовцева В.Ю. ....	413	Ильина Н.Г. ....	248
Грамматикова Н.Э. ....	339	Ильина О.В. ....	223
Гретченко Г.А. ....	180	Ильинская О.Н. ....	331
Григорьева Н.О. ....	342	Ильинских Е.Н. ....	419, 423
Гриневич С.В. ....	229	Ильинских Н.Н. ....	419, 423
Губеева Е.Г. ....	297	Ильичева Т.Н. ....	384, 389, 395
Гулямова Т.Г. ....	380	Иманбаева Ж.А. ....	275
Гурин А.А. ....	120	<b>К</b>	
Гуськова Т.А. ....	369	Кабулова И.В. ....	184
<b>Д</b>		Казанская З.М. ....	339
Даниленко Р.У. ....	21, 250	Калинина О.В. ....	11
Джавахян Б.Р. ....	476	Камышный А.М. ....	188
Джусупгалиева М.Х. ....	6, 7, 63, 67, 235, 237	Канарский А.В. ....	307
Домнина Н.С. ....	360	Карабаева И.Т. ....	22
Донова М.В. ....	428	Караваева Ю.Е. ....	345,
Дорожкин В.И. ....	307	Караулов А.В. ....	196
Дорожко Л.А. ....	250	Каргальцева Н.М. ....	128
Дурыманов А.Г. ....	395	Карелин А.А. ....	271
<b>Е</b>		Касихина Е.И. ....	88
Егоров Н.С. ....	434, 458	Катцына Г.И. ....	74, 266
Егорова Л.Н. ....	251	Квятковская С.В. ....	266
		Кирсанова М.А. ....	340

Кирцидели И.Ю. ....	342	Ларина Е.В. ....	472
Китуашвили Т.А. ....	33	Ларина П.М. ....	181
Киян В.С. ....	96	Ларионова Е.Е. ....	284
Климко Н.Н. ....	131, 167, 258	Лахтин В.М. ....	196, 199, 202, 355
Кнорре Д.А. ....	345	Лахтин М.В. ....	196, 199, 202, 355
Кожокар А.С. ....	352	Лепеха Л.Н. ....	152
Козлова О.П. ....	131	Липницкий А.В. ....	146
Козлова Я.И. ....	258	Лисовская С.А. ....	129, 205, 331
Колбин А.М. ....	377	Лиховидов В.Е. ....	437, 442
Коллеров В.В. ....	428	Лобанова И.Е. ....	320
Колодязная В.А. ....	334	Ловачева О.В. ....	284
Комарова Б.С. ....	271	Логадырь Т.А. ....	133
Коренева Е.А. ....	243, 249	<b>М</b>	
Корниенко Е.И. ....	434	Макаров В.А. ....	339
Корнишева В.Г. ....	30	Максименко Е.С. ....	251
Короткий Ю.В. ....	229, 372	Малеева Е.Г. ....	258
Корсун В.Ф. ....	196	Малярчук А.П. ....	38, 44, 48, 52
Косогова Т.А. ....	389, 393	Маринин Л.И. ....	437
Кочеровец В.И. ....	128	Маркова О.В. ....	345
Кошвенко А.С. ....	348	Марковская А.А. ....	148
Красникова Д.И. ....	135, 143	Мартынова Е.А. ....	207
Краснопольская Л.М. ....	476	Маслякова Г.Н. ....	462
Крейер В.Г. ....	414, 434, 458	Матвеева Э.О. ....	458
Криворутченко Ю.Л. ....	133, 340	Матевосян Р.М. ....	160
Криницына Ю.М. ....	109	Магросова Л.Е. ....	317
Крутиков С.Н. ....	133	Мачулин А.И. ....	141
Крутикова М.С. ....	133	Мачулин А.И. ....	143
Крылов В.Б. ....	271	Медведев Ю.А. ....	35, 377
Кудава Х.Т. ....	33	Медведева Т.В. ....	34
Кульбицкая Т.Т. ....	170	Мирзабалаева А.К. ....	131
Кулько А.Б. ....	135	Михайлова Ю.В. ....	126
Кунельская В.Я. ....	139, 141, 143	Михайловский А.М. ....	152
Кураков А.В. ....	458	Мишина Н.Н. ....	297
Кураков А.В. ....	414	Мокриевич А.Н. ....	442
Кухар Е.В. ....	96	Морев С.И. ....	180, 21
<b>Л</b>		Морев С.И. ....	215
Лабжинов П.А. ....	231	Морозов С.Ю. ....	101
Лакатош С.А. ....	374	Мухамадеева О.Р. ....	21, 35, 250
Лапина Е.Е. ....	71		
Ларин А.Э. ....	181		

- Мясникова О.Н. .... 340
- Н**
- Наволокин Н.А. .... 462
- Наголкин А.В. .... 165
- Намазов Н.Р. .... 328
- Нанагюлян С.Г. .... 160
- Наурызов Н.Н. .... 176
- Никитина В.Е. .... 462
- Никулина А.И. .... 96
- Нифантьев Н.Э. .... 271
- Новицкая И.В. .... 156
- Новожилова Т.Ю. .... 358
- О**
- Оганесян Е.Х. .... 160
- Огарков Б.Н. .... 446
- Огаркова Г.Р. .... 446
- Олейник И.А. .... 338
- Олисова О.Ю. .... 77
- Олсуфьева Е.Н. .... 375
- Омарова Л.С. .... 176
- Орадова А.Ш. .... 275
- Орехова М.В. .... 271
- Осмоловский А.А. .... 414, 434,  
458
- П**
- Панасюк Е.Л. .... 122
- Парфенов В.А. .... 342
- Паршаков В.Р. .... 129, 331
- Пастушенков В.Л. .... 128
- Пахомова В.В. .... 109
- Петренко Е.Г. .... 35
- Пинсон И.Я. .... 77
- Пищулина Л.А. .... 249
- Плотников А.Д. .... 358
- Плотникова М.О. .... 223
- Подорольская Л.В. .... 455
- Поздышева Т.И. .... 180
- Поклонский Д.Л. .... 358
- Половец Н.В. .... 146
- Попов С.А. .... 165
- Попова Э.В. .... 360
- Постникова О.Н. .... 133, 340
- Прилепский А.Ю. .... 462
- Пудова О.Б. .... 358
- Пузанов В.А. .... 165
- Пушкина Т.В. .... 339
- Р**
- Равшанова Д.Т. .... 104
- Радикова О.В. .... 243, 249
- Рамазанова Б.А. .... 240
- Рамазанова Б.А. .... 8
- Рауш Е.Р. .... 167, 276
- Рахматов А.Б. .... 104
- Решетников И.В. .... 266
- Романенко С.Г. .... 139
- Руднева М.В. .... 126
- Рузиева Д.М. .... 380
- Рябова О.Б. .... 339
- С**
- Савченко А.А. .... 266
- Садвакас А.С. .... 219
- Сакенова М.С. .... 176
- Саларев В.В. .... 57
- Самедова А.А. .... 365
- Самусенок Л.В. .... 446
- Сапаргалиева А.Д. .... 275
- Сапин М.Р. .... 81
- Сарматова Н.И. .... 279
- Сачивкина Н.П. .... 217
- Свитич О.А. .... 231
- Севастьянова Э.В. .... 165
- Северин Ф.Ф. .... 345
- Секацкая Т.Е. .... 170
- Селиванова М.А. .... 320
- Селютина О.В. .... 37, 44, 48
- Семенов Э.И. .... 317
- Семенов Э.И. .... 297, 302,  
307
- Семенова Е.В. .... 63
- Сергеев А.Ю. .... 282
- Сергеева И.Г. .... 109, 248
- Сивокозов И.В. .... 284
- Симонов А.Ю. .... 374
- Синютин А.А. .... 172

Смирнова Е.А. ....	345	<b>Ф</b>	
Смольяникова В.А. ....	11, 14	Файзуллина Е.В. ....	79
Снимщикова И.А. ....	223	Филиппова И.А. ....	417
Соколов С.С. ....	345	Филиппова Л.В. ....	288
Соколова Г.Д. ....	311	Фролова Е.В. ....	258
Соколова Т.В. ....	38, 44, 48, 52	<b>Х</b>	
Солдатова Т.А., ....	109	Халдеева Е.В. ....	129
Солиев Д.А. ....	194, 195	Халдеева Е.В. ....	205
Соловьянова Н.А. ....	320	Халдеева Е.В. ....	331
Сомова В.В. ....	156	Хамидов Ф.Ш. ....	27, 29, 91, 194, 195
Спиридонов В.Е. ....	57	Хисматуллина З.Р. ....	21, 35, 250
Спиридонова В.А. ....	126	Хлгатян С.В. ....	243, 249
Спиридонова И.А. ....	413	Храмов Е.Н. ....	358
Степанов В.А. ....	172	Храмов М.В. ....	437
Степанов В.И. ....	315	<b>Ц</b>	
Степанова А.А. ....	287, 288	Цветков Ю.Е. ....	271
Суворова З.С. ....	229, 372	Цвигун Е.А. ....	476
Суровцев В.В. ....	339	Цейликман В.Э. ....	266
Сысолятин П.Г. ....	120	<b>Ч</b>	
<b>Т</b>		Чащин А.Ю. ....	86
Танасева С.А. ....	315	Чернова В.И. ....	68
Твалишвили Г.М. ....	33	Черновецкий М.А. ....	170
Тевяшова А.Н. ....	375	Черноусова Л.Н. ....	284
Теплякова Т.В. ....	384, 389, 393, 395	Чикишева Г.Е. ....	35
Тертычный А.С. ....	11, 14	Чилина Г.А. ....	34, 126
Титова В.Ю. ....	317	<b>Ш</b>	
Ткаченко С.Г. ....	60	Шабашова Т.Г. ....	260
Токарев Ю.С. ....	289	Шагдилеева Е.В. ....	167
Томашко Н.Н. ....	380	Шадрин Г.Б. ....	139, 143
Тонконогова Н.В. ....	63, 235, 237	Шамбилова Н.А. ....	176
Тремасов М.Я. ....	307, 317	Шанин И.А. ....	310
Тренин А.С. ....	374, 375	Шапекова Н.Л. ....	96
Тренин А.С. ....	476	Шарипова А.К. ....	96
Тышкевич Л.В. ....	340	Шаркова Т.С. ....	434, 455, 458
Тюрин А.П. ....	476	Шилова И.Б. ....	369
Тютерев С.Л. ....	360	Широков А.А. ....	462
<b>У</b>		Шишкова Н.А. ....	437
Устинов М.В. ....	65, 68	Шманева И.А. ....	223

Шмелев Е.И. ....	284	<b>Я</b>	
Шмелёва О.А. ....	325	Яковлев А.Б. ....	110, 114
Шнайдер Е.А. ....	109	Яковлев И.П. ....	348
Шумская И.Ю. ....	284	Якубович А.И. ....	86
Шутов А.А. ....	428	Янковой А.Г. ....	172
Щербо Д.С. ....	282	Яцына И.В. ....	71
Щербо С.Н. ....	282	Яшунский Д.В. ....	271
<b>Э</b>		<b>Ф</b>	
Элоян И.М. ....	160	Filippova L.V. ....	288
Эргашева З.А. ....	194	<b>К</b>	
Эргашева З.А. ....	195	Kawamoto S. ....	287, 288
Эшонхужаев О.О. ....	194, 195	<b>С</b>	
<b>Ю</b>		Shimizu K. ....	287,288
Юдина О.Н. ....	271	<b>У</b>	
Юсковец В.Н. ....	348	Yamaguchi M. ....	287, 288

## СОДЕРЖАНИЕ

## Глава 1

**Борьба с дерматофитией в России и Евразии.  
Дерматомикозы и трихомикозы**

ТЕРАПИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО КАНДИДОЗА КОЖИ Абдрашитов Ш.Г., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш. ....	6
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПРЕЯ ТЕРБИНАФИНА В ЛЕЧЕНИИ РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ Абдрашитов Ш.Г., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш. ....	7
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОЗОВ СТОП В КАЗАХСТАНЕ Акышбаева К.С., Рамазанова Б.А. ....	8
СЕБОРЕЙНЫЙ ДЕРМАТИТ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ: РОЛЬ <i>Malassezia</i> Александрова А.К., Смольяникова В.А., Тертычный А.С. Альбанова В.И., Калинина О.В. ....	11
РАЗНОЦВЕТНЫЙ ЛИШАЙ И СЕБОРЕЙНЫЙ КЕРАТОЗ У ПАЦИЕНТА С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ Александрова А.К., Смольяникова В.А., Тертычный А.С. ....	14
ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ (РСО-АЛАНИЯ) Бедоева З.Р., Базаев В.Т. ....	16
СЛУЧАИ ФАВУСА НА ЮГЕ РОССИИ Гаджимурадов М.Н. ....	17
ИММУННЫЙ СТАТУС У ДЕТЕЙ С ЗООАНТРОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ Хисматуллина З.Р., Мухамадеева О.Р., Даниленко Р.У. ....	21
АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИКИ МИКРОСПОРИИ Карабаева И.Т. ....	22
МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ИНФИЛЬТРАТИВНО- НАГНОИТЕЛЬНОЙ ТРИХОФИТИИ ЛОБКОВОЙ ОБЛАСТИ ПРЕПАРАТОМ ЦИКЛОПИРОКСОЛАМИНА Хамидов Ф.Ш. ....	27

ТЕРАПИЯ ИНФИЛЬТРАТИВНО-НАГНОИТЕЛЬНОЙ ТРИХОФИТИИ КОМБИНИРОВАННЫМ АНТИСЕПТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ Хамидов Ф.Ш. ....	29
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРИХОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ Корнишева В.Г. ....	30
К ВОПРОСУ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ МИКОЗОВ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ Кудава Х.Т., Твалиашвили Г.М., Китуашвили Т.А. ....	33
СЛУЧАЙ ВЫДЕЛЕНИЯ РЕДКОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ МИКРОСПОРИИ Медведева Т.В., Чилина Г.А. ....	34
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ЛОСЬОНА С ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ЭФФЕКТОМ ПРИ НАРУЖНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ МИКРОСПОРИЕЙ Мухамадеева О.Р., Хисматуллина З.Р., Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А., Петренко Е.Г. ....	35
К ТЕРАПИИ ОТРУБЕВИДНОГО РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ Селютина О.В. ....	37
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МИКОЗОВ КРУПНЫХ СКЛАДОВ Соколова Т.В., Малярчук А.П., Газарян О.Л. ....	38
ПРОФИЛАКТИКА МИКОЗОВ СТОП Соколова Т.В., Малярчук Т.А. ....	44
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РУБРОМИКОЗА КРУПНЫХ СКЛАДОВ Соколова Т.В., Малярчук А.П., Газарян О.Л. ....	48
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ РУБРОМИКОЗА КРУПНЫХ СКЛАДОВ СЕРТАКОНАЗОЛОМ Малярчук А.П., Соколова Т.В., Газарян О.Л. ....	52
ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ КАБИНЕТА «ЭСТЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ» В МИКОЛОГИЧЕСКОМ ОТДЕЛЕНИИ ОБЛКОЖВЕНДИСПАНСЕРА Спирidonов В.Е., Саларев В.В. ....	57

К ВОПРОСУ О ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАЗНОЦВЕТНОГО ЛИШАЯ Ткаченко С.Г. ....	60
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ АССОЦИАНТЫ ПРИ ДЕРМАТОМИКОЗАХ Тонконогова Н.В., Джусупгалиева М.Х., Семенова Е.В., Абдрашитов Ш.Г. ....	63
ВЫБОР ТОПИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СОЧЕТАННЫХ ДЕРМАТОЗОВ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ Устинов М.В. ....	65
ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕРТАКОНАЗОЛА В ТЕРАПИИ ДИСГИДРОТИЧЕСКОЙ ФОРМЫ МИКОЗОВ СТОП Устинов М.В., Чернова В.И. ....	68
ОЦЕНКА МИКОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА ПЕРЛИТНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ Яцына И.В., Лапина Е.Е. ....	71
ОПЫТ ОРГАНИЗАЦИИ МИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ Зорин А.Н., Катцына Г.И., Анисимова Е.А. ....	74

## Глава 2

### Проблема онихомикозов

ИТРАКОНАЗОЛ В ЛЕЧЕНИИ ОНИХОМИКОЗОВ Абдрашитов Ш.Г., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитова Л.Ш. ....	76
ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАЗЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ОНИХОМИКОЗОВ Акмаева А.Р., Олисова О.Ю., Пинсон И.Я. ....	77
ЛЕЧЕНИЕ ОНИХОМИКОЗА ПРЕПАРАТОМ «ИРУНИН» Файзуллина Е.В. ....	79
ПЕРСОНИФИЦИРОВАННАЯ ФАРМАКОТЕРАПИЯ В ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКОЙ МИКОЛОГИИ Герасимчук Е.В., Гладько В.В., Герасимчук М.Ю. ....	80

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НОГТЕВЫХ ПЛАСТИНОК В НОРМЕ, ПРИ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ Герасимчук М.Ю., Сапин М.Р., Герасимчук Е.В.....	81
РАЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ТЕРАПИИ ОНИХОМИКОЗОВ У ЛИЦ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА Якубович А.И., Чашин А.Ю. ....	86
ОНИХОДИСТРОФИИ У ДЕТЕЙ В ПРАКТИКЕ МИКОЛОГА Касихина Е.И. ....	88
ИТРАКОНАЗОЛ В ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗАМИ СТОП И КИСТЕЙ Хамидов Ф.Ш.....	91
СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОНИХОМИКОЗОВ ЧЕЛОВЕКА, ВЫДЕЛЕННЫХ В г. АСТАНЕ Кухар Е.В. Киян В.С., Шарипова А.К. Никulina А.И., Шапекова Н.Л. ....	96
НОВЫЕ МОДАЛЬНОСТИ МЕСТНОЙ ТЕРАПИИ ОНИХОМИКОЗОВ Морозов С.Ю.....	101
АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОНИХОМИКОЗОВ Рахматов А.Б., Равшанова Д.Т.....	104
ОЦЕНКА ПАЦИЕНТАМИ ИСТОЧНИКА ИНФИЦИРОВАНИЯ ПРИ МИКОЗАХ КОЖИ И НОГТЕЙ Криницына Ю.М., Сергеева И.Г. Шнайдер Е.А., Пахомова В.В., Солдатова Т.А., .....	109
К ВОПРОСУ О СОВМЕСТИМОСТИ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЕВРОПЕЙСКОЙ КЛАССИФИКАЦИЙ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ОНИХОМИКОЗА Яковлев А.Б.....	110
ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫМИ КУРСАМИ СОВРЕМЕННЫХ АНТИМИКОТИКОВ С УКРОЧЕННЫМИ ИНТЕРВАЛАМИ Яковлев А.Б.....	114

## Глава 3

## Глубокие, фокальные и эндемические микозы

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОДОНТОГЕННЫХ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ СИНУСИТОВ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ АСПЕРГИЛЛЕМОЙ Байдик О.Д., Сысолятин П.Г., Гурин А.А., Ильенок О.В. ....	120
ИНВАЗИВНЫЕ МИКОЗЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ Говорова Д.В., Панасюк Е.Л. ....	122
МИКОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БРОНХО-АЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ ЛЕГКИХ Игнатъева С.М., Богомоллова Т.С., Спиридонова В.А., Михайлова Ю.В., Руднева М.В., Чилина Г.А. ....	126
ОСОБЕННОСТИ АССОЦИАЦИЙ ГРИБОВ С БАКТЕРИЯМИ ПРИ ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА У ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ПАТОЛОГИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ Каргальцева Н.М., Борисова О.Ю., Алешкин В.А., Кочеровец В.И., Пастушенков В.Л. ....	128
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ РОСТА КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ASPERGILLUS NIGER, ВЫДЕЛЕННЫХ У БОЛЬНЫХ ОТОМИКОЗАМИ Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И., Паршаков В.Р., Баязитова А.А. ....	129
ОСОБЕННОСТИ ТОРАКАЛЬНОГО АКТИНОМИКОЗА Козлова О.П., Мирзабалаева А.К., Клишко Н.Н. ....	131
КОЛОНИЗАЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ И РАЗВИТИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ Крутиков С.Н., Криворутченко Ю.Л., Постникова О.Н., Крутикова М.С., Логадырь Т.А. ....	133
МИКОЗЫ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ: ВИДОВОЙ СОСТАВ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ	

К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ Кулько А.Б. ....	135
ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКИ И ЛЕЧЕНИЯ КАНДИДОЗНОГО ЛАРИНГИТА Красникова Д.И., Андрееenkova О.А Кунельская В.Я., Романенко С.Г., Шадрин Г.Б., .....	139
РОЛЬ ГРИБКОВОЙ ФЛОРЫ В РАЗВИТИИ АДЕНОИДИТА Кунельская В.Я., Мачулин А.И. ....	141
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МИКОЗА ЛОР-ОРГАНОВ Красникова Д.И., Андрееenkova О.А. Кунельская В.Я., Шадрин Г.Б., Мачулин А.И., .....	143
ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА И РАЗРАБОТКА ВАКЦИН ПРИ ИНВАЗИВНЫХ МИКОЗАХ Липницкий А.В., Половец Н.В.....	146
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ ГРИБКОВЫХ ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ РОТОГЛОТКИ У ЛИЦ С ИММУНОДЕФИЦИТАМИ Марковская А.А.....	148
ГЛУБОКИЕ МИКОЗЫ ПРИ СОЧЕТАНИИ ТУБЕРКУЛЕЗА И ВИЧ-ИНФЕКЦИИ (ПО ДАННЫМ ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ) Михайловский А.М., Лепеха Л.Н.....	152
К ВОПРОСУ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКОТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ ГЛАЗ Новицкая И.В., Сомова В.В. ....	156
МИКОТИЧЕСКИЕ ПОРАЖЕНИЯ ЛОР-ОРГАНОВ ГРИБАМИ РОДА <i>ASPERGILLUS</i> Оганесян Е.Х., Элоян И.М., Матевосян Р.М. Нанагюлян С.Г. ....	160
ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЧИСТОТЫ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ В МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ КАК ПРОФИЛАКТИКА НОЗОКОМИАЛЬНЫХ МИКОЗОВ ЛЕГОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ Попов С.А., Пузанов В.А., Севастьянова Э.В., Наголкин А.В. ...	165

ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЙ ИНВАЗИВНЫЙ КАНДИДОЗ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ Шагдилеева Е.В., Рауш Е.Р., Богомолова Т.С., Васильева Н.В., Климко Н.Н. ....	167
СОПУТСТВУЮЩИЕ ИНВАЗИВНЫЕ МИКОЗЫ У ДЕТЕЙ С ОСНОВНОЙ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ Черновецкий М.А., Секацкая Т.Е., Кульбицкая Т.Т. ....	170
ЛЕЧЕНИЕ ГРИБКОВОЙ ИНФЕКЦИИ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ КАК ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА Янковой А.Г., Синютин А.А., Степанов В.А. ....	172

## Глава 4

### Кандидоз как глобальная проблема

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ <i>CANDIDA ALBICANS</i> И <i>NON-ALBICANS</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ КАНДИДОЗНЫХ КОЛЬПИТАХ Азизов И.С., Шамбилова Н.А., Омарова Л.С., Сакенова М.С., Наурызов Н.Н. ....	176
ВЫЯВЛЕНИЕ ГРИБОВ РОДА <i>CANDIDA</i> ПРИ ДИСБИОЗЕ НОСО- И РОТОГЛОТКИ У ЧАСТО БОЛЕЮЩИХ ДЕТЕЙ В МНОГОДЕТНОЙ СЕМЬЕ Гарасько Е.В., Поздышева Т.И., Гретченко Г.А., Морев С.И. ....	180
ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ <i>CANDIDA SP.</i> Годовалов А.П., Быкова Л.П., Ларин А.Э., Ларина П.М. ....	181
КОРРЕКЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ С УЧЕТОМ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОФЛОРЫ ВЛАГАЛИЩА Кабулова И.В. ....	184
ВЛИЯНИЕ <i>S. ALBICANS</i> НА ЭКСПРЕССИЮ ИММУННЫХ ПРОТЕАСОМ И NF- $\kappa$ B ФАКТОРА КЛЕТКАМИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ НОСА Камышный А.М. ....	188

ОПТИМИЗАЦИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ КАНДИДОЗОВ У ЖЕНЩИН ФЕРТИЛЬНОГО ВОЗРАСТА Хамидов Ф.Ш., Эргашева З.А., Абдуназаров Т.А., Эшонхужаев О.О., Солиев Д.А. ....	194
ФАРМАКОЭПИДЕМИОЛОГИЯ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ Хамидов Ф.Ш., Абдуназаров Т.А., Солиев Д.А., Эшонхужаев О.О., Эргашева З.А. ....	195
БИОПЛЕНКИ ГРИБОВ: РЕШАЮЩАЯ РОЛЬ ИНИЦИАТОРА СБОРКИ В ПРОЛОНГИРОВАНИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ДЕГРАДАЦИИ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Караулов А.В., Корсун В.Ф., Алешкин В.А., Афанасьев М.С. ....	196
ВЗАИМОВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ: ПОТЕНЦИАЛ И ПЕРСПЕКТИВЫ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Байракова А.Л., Афанасьев С.С. ....	199
ИМЭДЖЕВЫЙ КОНТРОЛЬ КОММУНИКАТИВНЫХ ГРИБКОВЫХ ТЕЛ В ПРИСУТСТВИИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ-РАСПОЗНАЮЩИХ СИСТЕМ: ПЕРСПЕКТИВА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ИМЭДЖЕВОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ Лахтин В.М., Лахтин М.В., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешкин В.А. ....	202
ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ <i>CANDIDA ALBICANS</i> Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И. ....	205
ИЗМЕНЕНИЕ РОСТА И ПРОЛИФЕРАЦИИ ДРОЖЖЕЙ РОДА <i>CANDIDA TROPICALIS</i> ПОД ДЕЙСТВИЕМ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА V1 Мартынова Е.А., Иванченко О.Б. ....	207
ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВА ГРИБОВ РОДА <i>CANDIDA</i> НА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОЛОСТИ РТА У ДЕТЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ЛЕЧЕНИИ СЪЕМНЫМИ	

ОРТОДОНТИЧЕСКИМИ АППАРАТАМИ Морев С.И., Гарасько Е.В.....	215
АДГЕЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ КАНДИД К БУККАЛЬНОМУ И ВАГИНАЛЬНОМУ ЭПИТЕЛИЮ ПО СРАВНЕНИЮ С МУЗЕЙНЫМ ШТАММОМ Сачивкина Н.П., Гирич В.С. ....	217
ОСОБЕННОСТИ ГЕНОМА ПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>CANDIDA GLABRATA</i> Садвакас А.С.....	219
ПОКАЗАТЕЛИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВАГИНАЛЬ- НОМ КАНДИДОЗЕ Снимщикова И.А., Шманева И.А., Ильина О.В., Плотникова М.О.....	223
ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО АРИЛАЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОСПИРТОВ НА ПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ <i>C. ALBICANS</i> Суворова З.С., Врынчану Н.А., Гриневич С.В. Короткий Ю.В.....	229
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ TLRs ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТИГЕНОВ <i>CANDIDA</i> <i>ALBICANS IN VITRO</i> Свитич О.А., Блинкова Л.П., Лабжинов П.А., Ганковская Л.В., Зверев В.В. ....	231
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ КАНДИДОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У ЖЕНЩИН Тонконогова Н.В., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитов Ш.Г.....	235
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПАТОГЕННОСТИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ <i>CANDIDA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА Тонконогова Н.В., Джусупгалиева М.Х., Абдрашитов Ш.Г.....	237

## Глава 5

### Противогрибковый иммунитет и микогенная сенсбилизация

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАНДИДА- МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ Акышбаева К.С., Рамазанова Б.А.....	240
---	-----

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ К ПЛЕСНЕВЫМ ГРИБАМ И КЛЕЩАМ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ Бержец В.М., Хлгатын С.В., Коренева Е.А., Емельянова О.Ю., Радикова О.В., Васильева А.В. ....	243
СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ К <i>ALTERNARIA ALTERNATA</i> У БОЛЬНЫХ ДИСГИДРОТИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМОЙ И АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ Бизунова М.А., Ильина Н.Г., Сергеева И.Г. ....	248
УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО ШТАММА <i>CANDIDA ALBICANS</i> ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО КАНДИДА-СПЕЦИФИЧНОГО АЛЛЕРГЕНА Блинкова Л.П., Бержец В.М., Хлгатын С.В., Радикова О.В., Васильева А.В., Коренева Е.А., Пищулина Л.А. ....	249
К ВОПРОСУ ОБ ИММУНОКОРРЕКЦИИ ТРИХОФИТИИ Даниленко Р.У., Хисматуллина З.Р., Мухамадеева О.Р., Глимнурова Л.М., Дорожко Л.А. ....	250
МИКОБИОТА ПЫЛИ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ г. ХАБАРОВСКА Егорова Л.Н., Железнова Л.В., Максименко Е.С. ....	251
ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ГРИБАМ ПЛЕСЕНИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ Богуцкая Н.К., Гарас Н.Н. ....	254
ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ ПРИ ГРИБКОВЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТРИГГЕРАХ ОБОСТРЕНИЯ Гарас Н.Н. ....	256
АЛЛЕРГИЧЕСКИЙ БРОНХОЛЕГОЧНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ Козлова Я.И., Борзова Ю.В., Малеева Е.Г., Фролова Е.В., Аак О.В., Клишко Н.Н. ....	258
МИКРОМИЦЕТЫ ЖИЛЫХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПОМЕЩЕНИЙ Шабашова Т.Г., Беломесяцева Д.Б. ....	260

**Глава 6****Новые и молекулярные методы диагностики  
микозов**

НОВЫЙ ПОДХОД К ВЫЯВЛЕНИЮ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ МИКОЗАМИ Беленюк В.Д., Савченко А.А., Борисов А.Г. Квятковская С.В., Решетников И.В., Цейликман В.Э., Анисимова Е.Н., Зорин А.Н., Катцына Г.И. ....	266
СИНТЕТИЧЕСКИЕ ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ ЛИГАНДЫ, РОДСТВЕННЫЕ МИКОПОЛИСАХАРИДАМ – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ СПЕЦИФИЧНЫХ МИКОДИАГНОСТИКУМОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ Нифантьев Н.Э., Крылов В.Б., Цветков Ю.Е. Карелин А.А., Юдина О.Н., Яшунский Д.В., Комарова Б.С., Орехова М.В., Генинг М.Л. ....	271
ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ВНУТРЕННЕМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ Орадова А.Ш., Сапаргалиева А.Д., Иманбаева Ж.А. ....	275
ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ <i>CANDIDA</i> SPP.: ДНК-СЕКВЕНИРОВАНИЕ И MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ Рауш Е.Р., Васильева Н.В., Богомоллова Т.С. ....	276
МИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ ПРИ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ Сарматова Н.И. ....	279
СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ГЕНОДИАГНОСТИКИ В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ, МЕТАГЕНОМИКЕ И МИКОЛОГИИ Щербо С.Н., Щербо Д.С., Сергеев А.Ю. ....	282
БРОНХОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ГРИБКОВЫХ КОЛОНИЗАЦИЙ ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ И АЛЬВЕОЛИТОМ ЛЕГКИХ Сивокозов И.В., Ловачева О.В., Шумская И.Ю., Шмелев Е.И., Черноусова Л.Н., Ларионова Е.Е. ....	284

ULTRASTRUCTURAL INVESTIGATIONS OF THE YEAST→ HYPHAL CELL TRANSITION OF THE <i>CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS</i> VAR. GRUBII IN MURINE BRAIN Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., Shimizu K., Kawamoto S., Bosak I.A. ....	287
ELECTRON MICROSCOPIC INVESTIGATIONS OF THE INTERACTIONS BETWEEN THE MURINE LUNG MACROPHAGES AND THE YEAST CELLS OF <i>CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS</i> STRAINS WITH DIFFERENT VIRULENCE Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Yamaguchi M., Shimizu K., Kawamoto S., Bosak I.A., Filippova L.V. ....	288
СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ И ТАКСОНОМИИ МИКРОСПОРИДИЙ <i>MICROSPORIDIA</i> <i>BALBIANI</i> 1882 (ОРИСТНОКОНТА: ОРИСТНОСПОРИДИЯ) Токарев Ю.С. ....	289

## Глава 7 Микотоксикология

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОХРАТОКСИНА А В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЗЕРНА КУКУРУЗЫ Изосимова И.В., Аксенов И.В. ....	296
ГИСТОСТРУКТУРА ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ Т-2-АФЛАТОКСИКОЗЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ АДСОРБЕНТА Мишина Н.Н., Губеева Е.Г., Валиев А.Р., Семенов Э.И. ....	297
СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ Т-2 ТОКСИНА, ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА И ЗЕАРАЛЕНОНА Семёнов Э.И. ....	302
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ Т-2 ТОКСИКОЗЕ И ПРИМЕНЕНИИ ПОЛИСАХАРИДНОГО АДСОРБЕНТА Семенов Э.И., Дорожкин В.И., Трemasов М.Я., Канарский А.В. ....	307

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФУМОНИЗИНОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ	
Шанин И.А., Возняк М.В., Возняк В.М., Еремин С.А. ....	310
ЗАМАСКИРОВАННЫЕ МИКОТОКСИНЫ	
Соколова Г.Д. ....	311
ВОЗДЕЙСТВИЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ПРОДУЦИРОВАНИЕ АФЛАТОКСИНА В1	
Танасева С.А., Валиев А.Р., Степанов В.И., Иванов А.А. ....	315
РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС МЕТОДА ИНДИКАЦИИ ЗЕАРАЛЕНОНА	
Титова В.Ю., Матросова Л.Е., Семенов Э.И., Тремасов М.Я. ....	317

## Глава 8

### Токсины грибов и микотоксикозы

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТОВ <i>MONARDA FISTULOSA</i> L. И <i>BISTORTA</i> <i>OFFICINALIS</i> DELABRE ОТНОСИТЕЛЬНО ВОЗБУДИТЕЛЯ КАНДИДОЗОВ <i>CANDIDA ALBICANS</i>	
Андреева И.С., Высочина Г.И., Лобанова И.Е., Соловьянова Н.А., Воронкова М.С., Селиванова М.А. ....	320
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОПИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ КОЖИ ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖАМ <i>CANDIDA ALBICANS</i>	
Арзуманян В.Г., Шмелёва О.А. ....	325
МИКОБИОТА И АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ <i>LAURUS NOBILIS</i> L. И <i>ACORUS CALAMUS</i> L.	
Бахшалиева К.Ф., Намазов Н.Р., Гаджиева Н.Ш., Алиева Л.Н. ....	328
ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ <i>ASPERGILLUS NIGER</i> К АНТИМИКОТИКАМ	
Баязитова А.А., Глушко Н.И., Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Паршаков В.Р., Ильинская О.Н. ....	331

НАНОПРОИЗВОДНЫЕ ТЕТРАЕНОВЫХ МАКРОЛИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ: ПОЛУЧЕНИЕ И МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА Белых В.В., Гарабаджу А.В., Колодязная В.А. ....	334
ИЗУЧЕНИЕ АНТИГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОСОМ Иванова Н.Н., Олейник И.А. ....	338
ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПРОТИВОГРИБКОВОГО СРЕДСТВА OBR-9926061 НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТКИ ГРИБА <i>CANDIDA ALBICANS</i> В ЭКСПЕРИМЕНТЕ Казанская З.М., Грамматикова Н.Э., Брагина Е.Е., Пушкина Т.В., Рябова О.Б., Макаров В.А., Суровцев В.В. ....	339
ТРИТЕРПЕНОВЫЙ САПОНИН ТАУРОЗИДУ ИЗ ПЛЮША КРЫМСКОГО КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ АНТИФУНГАЛЬНОЕ СРЕДСТВО Кирсанова М.А., Криворутченко Ю.Л., Постникова О.Н., Мясникова О.Н., Тышкевич Л.В. ....	340
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ ЭКСИМЕРНОГО ЛАЗЕРА НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ Кирцидели И.Ю., Григорьева Н.О., Парфенов В.А., Зверева Г.Н. ....	342
ИНГИБИРОВАНИЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ДОДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФОНИЕМ Кнорре Д.А., Маркова О.В., Смирнова Е.А., Караваева Ю.Е., Соколов С.С., Северин Ф.Ф. ....	345
НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИАДИАЗОЛА, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ Кошевенко А.С., Ананьева Е.П., Яковлев И.П., Юсковец В.Н. ....	348
СРАВНЕНИЕ АНТИСЕПТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИРРИГАЦИОННЫХ РАСТВОРОВ НА <i>CANDIDA ALBICANS</i> Братусь А.Е., Кожокар А.С. ....	352

ОБУСЛОВЛЕННОЕ ГЛИКОКОНЪЮГАТАМИ УСИЛЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСНЫХ ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ- РАСПОЗНАЮЩИХ СИСТЕМ Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин А.В., Алжешкин В.А.....	355
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСОСОЛЬВАТОВ В УСЛОВИЯХ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА Поклонский Д.Л., Храмов Е.Н., Пудова О.Б., Плотников А.Д., Алехова Т.А., Александрова Е.И., Новожилова Т.Ю., Загустина Н.А. ....	358
ФУНГИСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ХИТОЗАНА С 3-d МЕТАЛЛАМИ Попова Э.В., Домнина Н.С., Власов П.С., Тютюрев С.Л.....	360
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИГРИБКОВЫХ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ И БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАНАХ Самедова А.А.....	365
ИЗУЧЕНИЕ ФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO Шилова И.Б., Гуськова Т.А.....	369
АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛАЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОСПИРТОВ Суворова З.С., Врынчану Н.А., Короткий Ю.В. ....	372
НОВЫЙ КЛАСС ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ 3-(N-АМИНОАРИЛ)МАЛЕИМИДА Тренин А.С., Бычкова О.П., Симонов А.Ю., Лакатош С.А. ....	374
НОВЫЕ ГИБРИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ НА ОСНОВЕ БЕНЗОКСАБОРОЛОВ И АМФОТЕРИЦИНА В, ОБЛАДАЮЩИЕ ВЫСОКОЙ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ Тренин А.С., Тевяшова А.Н., Олсуфьева Е.Н.....	375

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕБУКОНАЗОЛА И АЛКИЛБЕНЗОЛСУЛЬФОНАТА ТЕБУКОНАЗОЛА В ОТНОШЕНИИ АНТРОПОЗООПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ Валитов Р.Б., Медведев Ю.А., Колбин А.М. ....	377
--	-----

## Глава 9

### Грибы – источники новых лекарственных средств

АНТИКАНЦЕРОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ БАРВИНКА Абдильмянова Л.И., Томашко Н.Н., Рузиева Д.М., Гулямова Т.Г., Азимова Ш.С. ....	380
ИНДУКЦИЯ СИНТЕЗА ЦИТОКИНОВ СИНТЕТИЧЕСКИМ ФРАГМЕНТОМ ЛИНЕЙНОГО (1-3)-БЕТА-ГЛЮКАНА В ОПЫТАХ <i>IN VITRO</i> Ахапкина И.Г., Антропова А.Б., Ахматов Э.А., Желтикова Т.М. ....	381
МЕЛАНИНЫ ИЗ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ <i>INONOTUS</i> <i>OBLIQUUS</i> И ИХ ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2 ТИПА Ананько Г.Г., Теплякова Т.В., Бардашева А.В.Ильичева Т.Н. ....	384
ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ И СУММАРНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2-го ТИПА И ВИРУСА ГРИППА ТИПА А Бардашева А.В., Косогова Т.А., Ильичева Т.Н., Теплякова Т.В. ....	389
СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ И БЕЛКОВ В ЭКСТРАКТАХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ, ПОДГОТОВЛЕННЫХ РАЗНЫМИ СПОСОБАМИ Бардашева А.В., Косогова Т.А., Теплякова Т.В. ....	393
ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ ЕЖЕВИКА УСИКОВОГО <i>HERICIAM CIRRHATUM</i> <i>PERS.</i> 1794 В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 2 ТИПА Бардашева А.В., Ильичёва Т. Н., Дурыманов А.Г., Теплякова Т.В. ....	395

БИОАКТИВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ РОДА <i>MARASMIUS</i> Fr. И <i>MYCETINIS</i> Earle Белова Н.В. ....	400
МАКРОМИЦЕТЫ С БИОАКТИВНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ И ГЕНОФОНД ЭТИХ ВИДОВ В КОЛЛЕКЦИИ LE-VIN Белова Н. В. ....	407
МИКРОМИЦЕТЫ – ИСТОЧНИК АНТИОКСИДАНТОВ Бибикова М.В., Готовцева В.Ю., Спиридонова И.А. ....	413
ПРОТЕИНАЗЫ МИКРОМИЦЕТОВ С АКТИВНОСТЯМИ ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ЧЕЛОВЕКА Бобровская А.А., Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г., Кураков А.В. ....	414
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭНТЕРАЛЬНОГО И ПАРЭНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИЗ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА ВЕСЕЛКА ОБЫКНОВЕННАЯ Филиппова И.А. ....	417
АКТИВАЦИЯ Т-ИММУНОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСТРАКТОВ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ ШИИТАКЕ ( <i>LENTINULA EDODES</i> ), ЭКСПОНИРОВАННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СВЕТОВЫХ РЕЖИМАХ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Глухова Л.Б. ....	419
АНТИМУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ИЗ МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ ШИИТАКЕ ( <i>LENTINULA EDODES</i> ) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА АДРИАМИЦИНА НА КУЛЬТУРУ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Глухова Л.Б. ....	423
БИОКОНВЕРСИЯ ПРЕГНЕНОЛОНА МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ: ПОЛУЧЕНИЕ 11 $\alpha$ -ГИДРОКСИПРОГЕСТЕРОНА Коллеров В.В., Шутов А.А., Донова М.В. ....	428
ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ С ВЫРАЖЕННОЙ УРОКИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, ОБРАЗУЕМЫЕ <i>ARTHROBOTRYS LONGA</i>	

Корниенко Е.И., Осмоловский А.А., Звонарева Е.С., Крейер В.Г., Шаркова Т.С., Егоров Н.С. ....	434
АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИЙ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Храмов М.В., Быстрова Е.В. ....	437
ПОЛУЧЕНИЕ ГРИБНЫХ СУБСТАНЦИЙ И ИХ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ НА АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ Лиховидов В.Е., Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Быстрова Е.В. ....	442
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КУЛЬТУРЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р., Самусенок Л.В. ....	446
ОСОБЕННОСТИ РАССАСЫВАНИЯ ГЕМАТОМ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ ГРИБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЛОНГОЛИТИНОМ Подорольская Л.В., Шаркова Т.С. ....	455
ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ПРОТЕИНАЗ С ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ Шаркова Т.С., Матвеева Э.О., Кураков А.В., Осмоловский А.А., Крейер В.Г., Баранова Н.А., Егоров Н.С. ....	458
ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ И ПЛОДОВЫХ ТЕЛ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ Ветчинкина Е.П., Широков А.А., Бучарская А.Б., Наволокин Н.А., Прилепский А.Ю., Буров А.М., Маслякова Г.Н., Никитина В.Е. ....	462
СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКАНОВ В КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ НА ОСНОВЕ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ Жилинская Н.В., Ларина Е.В. ....	472
ОБРАЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРОВ БИОСИНТЕЗА СТЕРОЛОВ КУЛЬТУРОЙ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА	

*PLEUROTUS ERYNGII*

Тренин А.С., Бычкова О.П., Цвигун Е.А., Джавахян Б.Р.,  
Тюрин А.П., Краснопольская Л.М..... 476

---

*Научное издание*

**Успехи медицинской микологии**

**Том XIV**

**Под общей научной редакцией**

**Ю.В. Сергеева**

Издано Национальной академией микологии

Подписано к печати 25.03.2015 г.

Формат 60x90/16.

Гарнитура «Minion-Pro».

Объем 32 п.л. Тираж 500 экз.

Компьютерная подготовка ООО «ТАСТ»

Отпечатано на полиграфической базе

ООО «ТАСТ»