**ISSN:** 1819-0901
**Medicina v Kuzbasse**
**Med. Kuzbasse**

# Медицина в Кузбассе
# Medicine in Kuzbass

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Основан в 2002 году

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Е.Б. БРУСИНА

**Учредитель:**
НП «ИД Медицина и Просвещение»
**Адрес:**
650066, Россия, Кемеровская область, г. Кемерово, пр. Октябрьский, 22
Тел./факс: 8 (3842) 39-64-85
e-mail: m-i-d@mail.ru
www.medpressa.kuzdrav.ru
**Директор:**
А.А. Коваленко
**Научный редактор:**
Н.С. Черных
**Макетирование:**
А.А. Черных
И.А. Коваленко

**Издатели:**
ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава России; Департамент охраны здоровья населения Кемеровской области.

Издание зарегистрировано в Сибирском окружном межрегиональном территориальном управлении Министерства РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации № ПИ 12-1626 от 29.01.2003 г.

**Подписано в печать:** 8.12.2015
**Дата выхода в свет:** 22.12.2015 г.
**Отпечатано:** ООО «ТД «Азия-принт», 650004, Россия, Кемеровская область, г. Кемерово, ул. Сибирская, 35А.
**Тираж:** 1500 экз.

Распространяется по подписке. Подписной индекс **60358** в каталоге российской прессы «Почта России». Розничная цена договорная.

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Агаджанян В.В., Барбараш Л.С., Ивойлов В.М., Золоев Г.К., Колбаско А.В., Калентьева С.В. – ответственный секретарь, Михайлуц А.П., Попонникова Т.В. – зам. главного редактора, Чурляев Ю.А.

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ардашев И.П. (Кемерово), Барбараш О.Л. (Кемерово), Баранов А.И. (Новокузнецк), Баттакова Ж.Е. (Караганда, Казахстан), Брюханов В.М. (Барнаул), Глушков А.Н. (Кемерово), Ельский В.Н. (Донецк, Украина), Ефремов А.В. (Новосибирск), Захаренков В.В. (Новокузнецк), Копылова И.Ф. (Кемерово), Новиков А.И. (Омск), Новицкий В.В. (Томск), Подолужный В.И. (Кемерово), Рыков В.А. (Новокузнецк), Селедцов А.М. (Кемерово), Сергеев А.С. (Кемерово), Тё Е.А. (Кемерово), Устьянцева И.М. (Ленинск-Кузнецкий), Царик Г.Н. (Кемерово), Чеченин Г.И. (Новокузнецк), Шраер Т.И. (Кемерово), Elgudin Y. (Эльгудин Я.) (Кливленд, США), Vaks V.V. (Вакс В.В.) (Лондон, Великобритания).

## АДРЕС РЕДАКЦИИ

650029, Россия, Кемеровская область,
г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22А.
Тел. 8(3842)734888; факс 8(3842)734856.
E-mail: kemsma@kemsma.ru

Решением Президиума Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки России от 19 февраля 2010 года № 6/6 журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

Журнал входит в Российский Индекс Научного Цитирования

Обязательные экземпляры журнала находятся в Российской Книжной Палате, в Федеральных библиотеках России и в Централизованной Библиотечной Системе Кузбасса

Материалы журнала включены в Реферативный Журнал и Базы данных ВИНИТИ РАН

# ОГЛАВЛЕНИЕ:

КОЛОНКА РЕДАКТОРА . . . . . .3

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Хуторная М.В., Южалин А.Е., Рутковская Н.В., Головкин А.С., Барбараш Л.С.**
СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ TLR
С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА . . . . . .4

**Николенко В.В., Фельдблюм И.В., Захарова Ю.А., Воробьева Н.Н.**
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ
И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО
ЭКСПРЕСС-ТЕСТА И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
ПРИ ВЕРИФИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ
ПНЕВМОКОККОВЫХ ПНЕВМОНИЙ . . . . . .10

**Отдушкина Л.Ю.**
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОККОВОЙ МИКРОФЛОРЫ
КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ . . . . . .14

**Баянова Т.А., Ботвинкин А.Д.**
АНАЛИЗ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ
НА ФОНЕ ЭПИДЕМИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ . . . . . .19

**Марковская А.А.**
РОЛЬ ГРИБОВ РОДА CANDIDA В РАЗВИТИИ
ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ
У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ . . . . . .23

**Гончаров А.Е.**
ШТАММЫ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ
МУТАЦИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ S. AUREUS
РАЗЛИЧНЫХ SPA-СИКВЕНСТИПОВ:
ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ . . . . . .26

**Захарова Ю.В., Леванова Л.А.**
СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА
У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ . . . . . .29

**Ефимова А.Р., Дроздова О.М., Карань Л.С.**
МНОГОЛЕТНЯЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КЛЕЩЕВЫМ
ЭНЦЕФАЛИТОМ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
ВОЗБУДИТЕЛЯ В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ . . . . . .34

**Сармометов Е.В., Сергевнин В.И., Микова О.Е., Зимина В.Н., Варецкая Т.А., Шмагин Д.В.**
ЧАСТОТА КОНТАМИНАЦИИ МИКОБАКТЕРИЯМИ
ТУБЕРКУЛЕЗА ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ
МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ, ОКАЗЫВАЮЩЕЙ
ПОМОЩЬ ПАЦИЕНТАМ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ . . . . . .40

**Вотинцев М.Н., Зуева Л.П., Козлов С.С., Азаров Д.В., Гончаров А.Е.**
БЛАСТОЦИСТНАЯ ИНВАЗИЯ:
ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СВЯЗЬ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КОЖИ . . . . . .45

**Сухина М.А., Жуховицкий В.Г., Селькова Е.П.**
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ
ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ . . . . . .48

**Кутихин А.Г., Великанова Е.А., Глушкова Т.В., Ефимова О.С., Попова А.Н., Малышева В.Ю., Владимиров А.А., Созинов С.А., Руссаков Д.М., Гутаковский А.К., Живодков Ю.А., Демидов Е.А., Пельтек С.Е., Долганюк В.Ф., Бабич О.О., Фролов А.В., Мухамадияров Р.А., Долгов В.Ю., Григорьев Е.В., Брусина Е.Б., Барбараш О.Л.**
СХОДСТВО МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК,
И ИСКУССТВЕННО СИНТЕЗИРОВАННЫХ
МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ . . . . . .55

## ОБЗОРЫ НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

**Печеник А.С., Шмакова М.А., Шатаев Г.Н., Перец О.В., Пекарская Е.В., Бобонец А.В., Турегалиев К.В.**
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ
ПРОТИВ ГРИППА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ . . . . . .66

**Блох А.И.**
ЭТИОЛОГИЯ И ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ НЕМЕЛАНОМНЫХ
РАКОВ КОЖИ И МЕЛАНОМЫ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ . . . . . .71

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

**Федорова Ю.С., Кульпин П.В.**
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНО-СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ
ПЕРИКАРПИЯ ПЛОДОВ GARCINIA MANGOSTANA L.
МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ . . . . . .76

## УКАЗАТЕЛИ

УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ
«МЕДИЦИНА В КУЗБАССЕ» ЗА 2015 ГОД . . . . . .78

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ ЖУРНАЛА
«МЕДИЦИНА В КУЗБАССЕ» ЗА 2015 ГОД . . . . . .80

## КОРОТКОЙ СТРОКОЙ

РЕФЕРАТЫ СТАТЕЙ . . . . . .82

***Уважаемые коллеги!***

В новое столетие медицинская наука пришла с колоссальным багажом знаний по диагностике, профилактике и лечению инфекционных болезней. Вместе с тем, за последние десятилетия клинические и эпидемиологические проявления многих инфекций изменились больше, чем за всю предыдущую историю наблюдений за этими заболеваниями. Инфекционные болезни продолжают наносить значительный ущерб человечеству. Из 51 млн человек, ежегодно умирающих в мире, почти 17 млн погибают от инфекций, которые по-прежнему остаются ведущей причиной смертности и первой причиной преждевременной смертности. Половина населения планеты проживает в условиях постоянной угрозы эндемических инфекций.

Быстро меняющийся мир, процессы глобализации сопровождаются возрождением старых и распространением новых инфекционных болезней. За последние 35 лет выделено и идентифицировано более 40 новых патогенов – от исключительно опасного вируса геморрагической лихорадки Эбола до ротавирусов, ставших наиболее распространёнными возбудителями диареи у детей.

Резко возросшие миграционные процессы, международная торговля, туризм, современные средства транспорта активизируют процессы распространения инфекций, их переносчиков. Вероятность появления инфекции на значительно удаленной от первичного очага территории исчисляется часами.

Процессы урбанизации, сопровождающиеся формированием антропогенных экологических ниш для ряда возбудителей, изменения в технологии приготовления, хранения и транспортировки пищевых продуктов способствуют эволюции и распространению инфекционных болезней.

Широкое и нерациональное применение антимикробных препаратов определяет быстрое развитие антибиотикоустойчивости у многих бактерий, что способствовало росту заболеваемости и смертности от туберкулеза, малярии, пневмококковой, стафилококковой, гемофильной и других инфекций. Новые технологии в медицине увеличивают риск появления необычных для известных возбудителей путей передачи. Реальность сегодняшних дней – эпидемии ВИЧ-инфекции, туберкулеза, геморрагических лихорадок, гриппа.

Биологическая опасность, связанная с появлением новых, возвратом считавшихся побежденными патогенов, определяет актуальность изучения инфекционных болезней, поиска новых средств диагностики, профилактики и лечения. Именно этим проблемам преимущественно и посвящен данный номер журнала.

Главный редактор –
д.м.н., профессор
Брусина Е.Б.

*Статья поступила в редакцию 8.09.2015 г.*

**Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Хуторная М.В., Южалин А.Е., Рутковская Н.В., Головкин А.С., Барбараш Л.С.**

*Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово*

*Оксфордский институт радиационной онкологии, Оксфордский университет, Оксфорд, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии*

*Северо-Западный Федеральный медицинский исследовательский центр, г. Санкт-Петербург*

# СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ TLR С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

Инфекционный эндокардит (ИЭ) имеет бактериальную этиологию и напрямую связан со скоростью и качеством иммунного реагирования. Toll-подобные рецепторы (TLRs) являются ключевыми эффекторами врожденного иммунитета. Предположили, что межиндивидуальные различия в структуре генов системы TLR оказывают влияние на восприимчивость к бактериальным агентам и могут являться генами-кандидатами ИЭ.

**Цель исследования** – проанализировать распределение генотипов и аллелей некоторых полиморфизмов генов рецепторов врожденного иммунитета [TLR1 (rs5743551, rs5743611), TLR2 (rs3804099, rs5743708), TLR4 (rs4986790, rs4986791), TLR6 (rs3775073, rs5743810)] в группе пациентов с ИЭ.

**Объект исследования.** 110 больных ИЭ (русские жители юга Западной Сибири) и 300 доноров той же этнической принадлежности.

**Методы.** Генотипирование методом аллель-специфичной ПЦР в реальном времени.

**Основные результаты.** Генотип C/C полиморфизма rs3775073 TLR6 статистически значимо ассоциирован со сниженным риском развития ИЭ (ОШ = 0,51, 95% ДИ = 0,26-0,97; p = 0,032) в соответствии с рецессивной моделью наследования.

**Область применения:** кардиология и кардиохирургия.

**Выводы.** Гены рецепторов врожденного иммунитета могут являться кандидатными при определении рисков развития ИЭ. Однако необходим дополнительный поиск маркерных полиморфных сайтов, участвующих в патогенезе ИЭ и связи с этиологическим агентом данного заболевания.

***Ключевые слова:*** *инфекционный эндокардит; генные полиморфизмы; врожденный иммунитет; TLR.*

**Ponasenko A.V., Kutikhin A.G., Khutornaya M.V., Yuzhalin A.E., Rutkovskaya N.V., Golovkin A.S., Barbarash L.S.**

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo,*
*Oxford Institute for Radiation Oncology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom,*
*Federal North-West Medical Research Centre, St. Petersburg*

## POLYMORPHISMS WITHIN THE GENES ENCODING TOLL–LIKE RECEPTORS AND RISK OF INFECTIVE ENDOCARDITIS

Infective endocarditis (IE) has a bacterial etiology and is directly associated with the features of immune response. Toll-like receptors (TLRs) are the key effectors of innate immunity. We suggested that interindividual structural variation within the genes encoding TLRs alters the susceptibility to bacterial agents and may be associated with IE.

**Study Aim.** To assess the distribution of genotypes and alleles of TLR1 (rs5743551, rs5743611), TLR2 (rs3804099, rs5743708), TLR4 (rs4986790, rs4986791), and TLR6 (rs3775073, rs5743810) gene polymorphisms in patients with IE.

**Study Object.** 110 patients with IE (Russian inhabitants of Southwestern Siberia) and 300 ethnicity-matched healthy blood donors.

**Methods.** Allele-specific real-time polymerase chain reaction.

**Results.** We found that C/C genotype of rs3775073 polymorphism within TLR6 gene is significantly associated with decreased IE risk (OR = 0,51, 95% CI = 0,26-0,97; p = 0,032) according to the recessive model of inheritance.

**Conclusions.** Polymorphisms within genes encoding innate immune receptors may be associated with IE. However, other polymorphisms are also able to be the culprits of IE.

***Key words:*** *infective endocarditis; single nucleotide polymorphisms; innate immunity; Toll-like receptors.*

Современные достижения в области молекулярной генетики определили возможность идентифицировать гены, продукты экспрессии которых принимают участие в развитии патологических состояний [1], в том числе и многофакторных. Выявлена важная роль наследственных межиндивидуальных различий структуры генов иммунной системы в предрасположенности ко многим заболеваниям [2].

Инфекционный эндокардит (ИЭ) – это заболевание, связанное с прямым внедрением возбудителя в ткани сердца (чаще микробной этиологии), сопровождающееся воспалительным поражением эндокарда и клапанных структур [3]. Несмотря на существенный прогресс в ранней диагностике и хирургических методах лечения в последние десятилетия, прогноз

**Корреспонденцию адресовать:**
ПОНАСЕНКО Анастасия Валериевна,
650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6.
Тел: +7-951-591-05-50.
E-mail: ponasenkoav@yandex.ru

многих пациентов с ИЭ остается неблагоприятным [4]. Независимо от того, что частота ИЭ относительно невелика (15-60 случаев на 10 тыс. населения в среднем в мире ежегодно), лечение этого заболевания представляет определенные сложности и сопряжено с высоким уровнем летальности [5, 6]. ИЭ — это мультифакторное заболевание, но изменение иммунного реагирования является наиболее определяющим в его формировании и течении [3]. Как и большинство инфекционных заболеваний, развитие и прогрессирование ИЭ представляет собой результат сложного взаимодействия большого числа генов с разнообразными факторами окружающей среды [7].

К наиболее частым вариантам спонтанных мутаций в генах относят однонуклеотидные замены (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) [8]. В настоящее время интенсивно изучаются структура и функция ключевых рецепторов врожденного иммунитета — Toll-подобных рецепторов (TLRs). Основной функцией Toll-подобных рецепторов является распознавание патоген-специфичных молекул (так называемых патоген-ассоциированных молекулярных паттернов) и, соответственно, активация врожденного иммунного ответа. Более того, TLRs участвуют в активации адаптивного иммунного ответа. Известно, что TLRs стимулируют фагоцитоз, участвуют в синтезе ряда цитокинов и регулируют экспрессию молекул клеточной адгезии [9]. Поэтому эффективность иммунного ответа зависит от TLR-опосредованного распознавания патогена и дальнейшей TLR-опосредованной активации внутриклеточных сигнальных путей. Показано, что нарушение функционирования TLRs и их сигнальных путей вследствие SNP может повышать риск развития аутоиммунных, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний [10-12]. Также установлено, что гиперактивация TLRs при действии эндогенных лигандов может приводить к развитию чрезмерного воспалительного ответа [13]. Оценивая совокупность имеющихся знаний о роли TLRs в активации иммунного ответа, можно рассматривать мутации в их генах в качестве одного из основных звеньев иммунопатогенеза ИЭ. Анализ роли генетических полиморфизмов TLRs в возникновении ИЭ возможно провести методом исследования ассоциаций соответствующих генетических маркеров с данным заболеванием.

Поэтому **целью данной работы** стало выявление генетических предикторов предрасположенности к ИЭ для изучения возможности проведения целенаправленной профилактики.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основную группу включены 110 пациентов с верифицированным диагнозом инфекционный эндокардит, перенесших операцию по протезированию клапанов сердца в НИИ КПССЗ в период с 2010 по 2013 гг. включительно. Все случаи ИЭ были подтверждены клинически (модифицированным критериям Duke [14]: 1 большой и 1 малый критерий или 3 малых критерия). Подтверждение клинического диагноза основывалось на картине состояния клапана и прилежащих тканей сердца во время хирургической замены (протезирования) поврежденного клапана (визуально определяемые вегетации на поверхности клапанных структур) и по данным гистологического исследования тканей удалённых клапанов (нарушение слоев тканей клапана, лейкоцитарная инфильтрация, положительная окраска на бактерии). На момент включения в исследование все пациенты находились в субкомпенсированном состоянии — проводились антибиотикотерапия и лечение сопутствующих заболеваний.

ИЭ нативного клапана был диагностирован у 72,3 % (n = 80) пациентов, ИЭ протезированного клапана — у 27,7 % (n = 30). Одновременно ИЭ нативного и протезированного клапанов имели 12,7 % (n = 14) пациентов. Наиболее часто ИЭ поражал митральный клапан (39,1 %, n = 43), аортальный клапан (19,1 %, n = 21) или одновременно митральный и аортальный клапаны (18,2 %, n = 20). ИЭ трикуспидального клапана зарегистрирован в 17,3 % (n = 19) случаев, в то время как митральный и трикуспидальный клапаны одновременно поражались лишь в 4,5 % (n = 5) случаев. Важно отметить, что 17,3 % (n = 19) больных ИЭ страдали от наркомании. Этиологическими агентами ИЭ были Staphylococcus epidermidis (2,7 %, n = 3), Streptococcus equi (1,8 %, n = 2), Staphylococcus aureus (4,5 %, n = 5)

**Сведения об авторах:**

ПОНАСЕНКО Анастасия Валериевна, канд. мед. наук, зав. лабораторией геномной медицины, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия. E-mail: ponasenkoav@yandex.ru

КУТИХИН Антон Геннадьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия.

ХУТОРНАЯ Мария Владимировна, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия.

ЮЖАЛИН Арсений Евгеньевич, аспирант, Институт радиационной онкологии и биологии им. Грея, Оксфордский университет, Оксфорд, Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии.

РУТКОВСКАЯ Наталья Витальевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория кардиоваскулярного биопротезирования, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия.

ГОЛОВКИН Алексей Сергеевич, доктор мед. наук, ст. науч. сотрудник, Институт молекулярной биологии и генетики, ФГБУ«СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург. Россия.

БАРБАРАШ Леонид Семенович, доктор мед. наук, профессор, академик РАН, гл. науч. сотрудник, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия.

и Enterococcus spp. (0,9 %, n = 1). В 90,1 % (n = 99) этиологический агент ИЭ выявлен не был. В качестве сопутствующих заболеваний у больных ИЭ также были диагностированы гепатит С (7,2 %, n = 8), гепатит В (1,8 %, n = 2), хроническая почечная недостаточность (13,5 %, n = 15), хроническая обструктивная болезнь легких (2,7 %, n = 3), пневмония (8,1 %, n = 9), пиелонефрит (11,7 %, n = 13), ишемическая болезнь сердца (9 %, n = 10) и легочная гипертензия (24,3 %, n = 27).

Контрольную группу составили 300 здоровых доноров без анамнестических данных о сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваниях, не имеющие основных факторов риска развития ишемических событий, а также сопоставимые с опытной группой по полу и возрасту.

Все включенные в исследование лица имели одну национальность – русские. Общая характеристика групп исследования представлена в таблице 1.

Все обследованные проживают в г. Кемерово и Кемеровской области; мигранты и коренное население исключены из исследования. Протокол исследования утвержден локальным этическим комитетом, все обследуемые ознакомлены с принципами исследования и подписали протокол информированного согласия на участие.

Пять миллилитров цельной периферической венозной крови собирали в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Геномную ДНК выделяли из цельной крови фенол-хлороформным методом по стандартному протоколу.

Изучали частоту встречаемости восьми однонуклеотидных полиморфизмов четырех генов системы TLR: TLR1 (rs5743551, rs5743611), TLR2 (rs3804099, rs5743708), TLR4 (rs4986790, rs4986791), TLR6 (rs3775073, rs5743810). Зонды с флуоресцентной меткой производства Applied Biosystems. Данные о полиморфизмах для типирования представлены в таблице 2.

Генотипирование проводили в 96-луночном формате по технологии TaqMan (аллель-специфичная ПЦР в реальном времени) при помощи амплификатора Applied Biosystems ViiA 7 Real-Time PCR System в соответствии с протоколом производителя. Контроль качества генотипирования проводился посредством повторного генотипирования 10 % образцов.

Обработка количественных данных осуществлялась с помощью программы Statistica 6,0. Нормальность распределения оценивалась посредством критерия д'Агостино-Пирсона. Анализ гендерно-возрастных характеристик проводился при помощи описательной статистики (медиана и доверительный интервал для медианы) и U-критерия Манна-Уитни. Статистический анализ результатов генотипирования осуществлялся посредством программы SNPStats [15].

**Таблица 1**
**Общая характеристика групп исследования**
**Table 1**
**General features of the study groups**

| Параметр | Контрольная группа | Опытная группа | Всего |
|---|---|---|---|
| Размер выборки, чел (%) | 300 (73,17 %) | 110 (26,83 %) | 410 (100 %) |
| Средний возраст, лет | 53 (51-54) | 48,5 (45-51) | 51,87 (50,55-53,18) |
| Мужчины, чел (%) | 190 (63 %) | 71 (65 %) | 261 (63,66 %) |
| Женщины, чел (%) | 110 (37 %) | 39 (35 %) | 149 (36,34 %) |

**Таблица 2**
**Характеристика использованных в исследовании полиморфизмов TLRs**
**Table 2**
**Features of the TLR gene polymorphisms investigated in the study**

| Ген | Нуклеотидная замена | Позиция в гене | Аминокислотная замена |
|---|---|---|---|
| TLR1 | | | |
| rs5743551 | A>G | -7202 | N/A |
| rs5743611 | C>G | 239 | Arg80Thr |
| TLR2 | | | |
| rs3804099 | T>C | 597 | Asn199Asn |
| rs5743708 | G>A | 2258 | Arg753Gln |
| TLR4 | | | |
| rs4986790 | A>G | 896 | Asp299Gly |
| rs4986791 | C>T | 1196 | Thr399Ile |
| TLR6 | | | |
| rs3775073 | A>G | 1263 | Lys421Lys |
| rs5743810 | T>C | 745 | Ser249Pro |

**Information about authors:**
PONASENKO Anastasia Valerievna, candidate of medical sciences, head of laboratory for genomic medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: ponasenkoav@yandex.ru
KUTIKHIN Anton Gennadievich, Junior Researcher, laboratory for genomic medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.
KHUTORNAYA Mariya Vladimirovna, junior researcher, laboratory for genomic medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.
YUZHALIN Arseniy Evgenievich, graduate student, Department of Oncology, Cancer Research UK and Medical Research Council Oxford Institute for Radiation Oncology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom.
RUTKOVSKAYA Nataliya Vitalievna, candidate of medical sciences, senior researcher, laboratory of bioprosthetic heart valves, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.
GOLOVKIN Alexey Sergeevich, doctor of medical sciences, senior researcher, Institute of Molecular Biology and Genetics, Federal North-West Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia.
BARBARASH Leonid Semenovich, doctor of medical sciences, professor, chief researcher, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

Равновесие Харди-Вайнберга (ХВ) определялось при помощи критерия хи-квадрат Пирсона с одной степенью свободы для сравнения наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов. Для оценки риска вычислялись отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ для ОШ по пяти моделям наследования (кодоминантной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной и лог-аддитивной). Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу менее 0,05. Поправка на множественные сравнения проводилась при помощи вычисления False Discovery Rate (FDR) и критерия перестановок (permutation test, StatXact 9, Cytel Inc., MA, USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов полиморфизма rs5743810 TLR6 у обследованных из контрольной группы не было равновесно согласно закону Харди-Вайнберга, однако в опытной группе оно соблюдено (табл. 3). В то же время, определена ассоциативная связь (ОШ = 2,29 (95% ДИ = 1,43-3,67); p = $5^{-4}$ по сверхдоминантной модели наследования) между гетерозиготным генотипом A/G rs5743810 и риском развития ИЭ (табл. 3). Однако, учитывая неравновесность по ХВ частот генотипов в контрольной группе и малый объем выборки опытной группы, этот полиморфизм был исключен из дальнейшего статистического анализа. Семь полиморфизмов четырех генов системы TLR имели равновесное по Харди-Вайнбергу распределение частот генотипов (табл. 4) и включены в полный анализ.

Определено, что генотип C/C полиморфизма rs3775073 TLR6 статистически значимо ассоциирован со сниженным риском развития ИЭ (ОШ = 0,51; 95% ДИ = 0,26-0,97; p = 0,032 по рецессивной модели наследования) (табл. 4). Других статистически значимых ассоциаций не найдено.

Одновременно не найдено статистически значимых различий при стратификации опытной и контрольной групп по гендерным и возрастным подгруппам, а также при сравнении частот гаплотипов опытной и контрольной групп.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время все больше исследователей подтверждают ключевую роль Toll-подобных рецепторов в восприимчивости к различным заболеваниям инфекционной и неинфекционной этиологии. Помимо экспрессии на клеточных поверхностях иммунокомпетентных клеток, у человека почти все виды TLRs экспрессируются в кардиомиоцитах и эндотелиоцитах [13, 16]. TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, выбранные для анализа в нашей работе, распознают почти все известные молекулярные паттерны микроорганизмов, инициируют первичный иммунный ответ на их инвазию и могут явиться генами-кандидатами развития ИЭ.

Установлено, что у человека гены многих ферментов, рецепторов и других белков характеризуются наличием одного или нескольких структурных полиморфизмов, которые не приводят к значимым изменениям первичной структуры белка и очевидным патологическим последствиям, но оказывают влия-

**Таблица 3**
**Распределение частот генотипов полиморфизма TLR6 rs5743810 в контрольной и опытной группах (с поправками на пол и возраст)**
**Table 3**
**The distribution of the TLR6 rs5743810 polymorphism genotypes amongst the cases and controls (adjusted by gender and age)**

| Модель наследования | Генотип | ОШ (95%ДИ) | p | Контрольная группа | ХВ контрольной группы | Опытная группа | ХВ опытной группы |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Кодоминантная | G/G | Ref. | | 144 (48 %) | | 33 (30,8 %) | |
| | A/G | **2.50 (1,49–4,20)** | **0,0017** | 113 (37,7 %) | | 59 (55,1 %) | |
| | A/A | 1,40 (0,67-2,89) | | 43 (14,3 %) | | 15 (14 %) | |
| Доминантная | G/G | Ref. | | 144 (48 %) | $\chi^2 = 6,78$ | 33 (30,8 %) | $\chi^2 = 1,95$ |
| | A/G-A/A | **2,17 (1,33–3,53)** | **0,0016** | 156 (52 %) | p = 0,0092 | 74 (69,2 %) | p = 0,16 |
| Рецессивная | G/G-A/G | Ref. | | 257 (85,7 %) | | 92 (86 %) | |
| | A/A | 0,86 (0,44-1,66) | 0,64 | 43 (14,3 %) | | 15 (14 %) | |
| Сверхдоминантная | G/G-A/A | Ref. | | 187 (62,3 %) | | 48 (44,9 %) | |
| | A/G | **2,29 (1,43–3,67)** | **0,004** | 113 (37,7 %) | | 59 (55,1 %) | |
| Лог-аддитивная | - | 1,38 (1,00-1,90) | 0,051 | - | | - | |

**Таблица 4**
**Распределение частот генотипов полиморфизмов TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 в контрольной и опытной группах после проведения перестановочного теста**
**Table 4**
**The distribution of the genotypes of the TLR1, TLR2, TLR4, TLR6 gene polymorphisms amongst the cases and controls after the permutation test**

| Полиморфизм<br>Модель наследования | Генотип | Группа контроля | Опытная группа | ОШ (95% CI) | p | ХВ<br>$\chi^2$ тест p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| TLR1 rs5743611 | | | | | | |
| Кодоминантная | C/C | 193 (64,3%) | 69 (63,3%) | Ref. | | |
| | C/G | 95 (31,7%) | 37 (33,9%) | 1,12 (0,68-1,82) | 0,63 | 0,75 |
| | G/G | 12 (4%) | 3 (2,8%) | 0,60 (0,16-2,25) | | |
| TLR1 rs5743551 | | | | | | |
| Кодоминантная | T/T | 172 (57,3%) | 67 (61,5%) | Ref. | | |
| | C/T | 109 (36,3%) | 40 (36,7%) | 0,94 (0,58-1,52) | 0,11 | 0,72 |
| | C/C | 19 (6,3%) | 2 (1,8%) | 0,25 (0,05-1,14) | | |
| TLR2 rs3804099 | | | | | | |
| Кодоминантная | T/T | 117 (39,1%) | 34 (31,5%) | Ref. | | |
| | C/T | 131 (43,8%) | 58 (53,7%) | 1,63 (0,97-2,72) | 0,14 | 0,55 |
| | C/C | 51 (17,1%) | 16 (14,8%) | 1,08 (0,53-2,19) | | |
| TLR 2 rs5743708 | | | | | | |
| Кодоминантная | G/G | 279 (93%) | 101 (93,5%) | Ref. | 0,82 | 0,47 |
| | A/G | 21 (7%) | 7 (6,5%) | 0,90 (0,35-2,28) | | |
| TLR4 rs4986790 | | | | | | |
| Кодоминантная | A/A | 253 (84,3%) | 95 (87,2%) | Ref. | | |
| | A/G | 46 (15,3%) | 13 (11,9%) | 0,68 (0,34-1,36) | 0,24 | 0,77 |
| | G/G | 1 (0,3%) | 1 (0,9%) | 6,68 (0,40-111,13) | | |
| TLR4 rs4986791 | | | | | | |
| Кодоминантная | C/C | 252 (84%) | 94 (87%) | Ref. | | |
| | C/T | 47 (15,7%) | 13 (12%) | 0,66 (0,33-1,32) | 0,22 | 0,73 |
| | T/T | 1 (0,3%) | 1 (0,9%) | 6,66 (0,40-110,90) | | |
| TLR6 rs3775073 | | | | | | |
| Кодоминантная | T/T | 98 (32,7%) | 41 (37,6%) | Ref. | | |
| | T/C | 138 (46%) | 54 (49,5%) | 0,98 (0,59-1,62) | 0,1 | |
| | C/C | 64 (21,3%) | 14 (12,8%) | 0,50 (0,25-1,02) | | 0,42 |
| Рецессивная | T/T-T/C | 236 (78,7%) | 95 (87,2%) | Ref. | **0,032** | |
| | C/C | 64 (21,3%) | 14 (12,8%) | **0,51 (0,26–0,97)** | | |

ние на функциональную активность кодируемых белков. Эти специфические для конкретной патологии маркеры могут быть выявлены задолго до ее клинической манифестации, что позволит определить группы риска, организовать их мониторинг и предложить индивидуально обоснованную профилактику и превентивную терапию [13].

Несинонимичные мутации как в кодирующей TLR1 (4 экзон, rs5743611), так и некодирующей (5'-untranslated region — 5'-UTR, rs5743551) части гена исследуются в различных популяциях в связи с заболеваемостью раком, сепсисом [17], однако в отношении инфекционного эндокардита таких работ не найдено. Влияющие на структуру и функцию TLRs однонуклеотидные полиморфизмы в областях, отвечающих за формирование распознающих доменов (LRR- и TIR-домены), приводят к нарушению передачи сигнала от активированного рецептора внутрь клетки [13]. Так, экзонные SNPs гена TLR2 могут приводить к изменению восприимчивости к различным инфекционным агентам. Одним из ассоциированных сразу с несколькими патологиями (стафилококковый сепсис, передний увеит и др.) является полиморфизм TLR2 Arg753Gln (rs5743708). Другой полиморфизм TLR2 (Asn199Asn, rs3804099) является синонимичной мутацией, но может изменить закономерности процесса сплайсинга или стабильность мРНК, или влиять на конфигурацию рецептора [18]. TLR4 является рецептором, изменчивость генов которого также связана с риском развития воспалительных процессов. Показано, что SNP Asp299Gly связан с SNP Thr399Ile. Оба представленных SNPs (Asp299Gly и Thr399Ile) приводят к нарушению структуры паттерн-распознающего домена TLR4, что снижает способность рецепторов распознавать липополисахариды (ЛПС) клеточных стенок, и ассоциирован с восприимчивостью к инфекционным болезням: сепсис, атеросклероз и др.[13].

Несмотря на описанную выше значимость полиморфизмов генов TLR 1, 2, 4 в формировании заболеваний инфекционного генеза, в представленном исследовании нам не удалось найти значимых ассоциаций между анализируемыми полиморфизмами и риском развития инфекционного эндокардита (табл. 4). В то же время, количество публикаций, посвященных роли генетической предрасположенности к развитию ИЭ, крайне ограничено, и представленные нами данные дополняют патогенез развития данного заболевания. Помимо нашей работы, были опубликованы результаты исследования Bustamante с соавт. в 2011 г. [16]. Авторы сравнили распределение частот генотипов полиморфизмов генов TLR2 (rs5743706, rs5743708) и TLR4 (rs4986790, rs4986791) у 65 больных ИЭ и 66 лиц контрольной группы. По аналогии с нашими результатами, авторы не выявили статистически значимых различий между опытной и контрольной группами в отношении полиморфизмов rs4986790 и rs4986791. В то же время, они показали статистически значимую связь полиморфизма rs5743708 с почти четырехкратно повышенным риском развития ИЭ (ОШ = 3,65; 95% ДИ = 1,73-7,69; $p < 0,001$ по кодоминантной модели наследования).

Различия в результатах нашего и указанного исследований могут быть объяснены малой выборкой у зарубежных коллег, различиями в гендерной, возрастной, этнической, генетической структурах выборок, а также различиями в клинических характеристиках включения в исследование. Не имеется возможности сравнить полученные нами данные по вкладу в развитие ИЭ полиморфизмов TLR6 с другими исследованиями в связи с отсутствием таковых. Однако, основываясь на распределении аллелей и генотипов в опытной и контрольной группах, мы выявили статистически значимые различия между группой здоровых доноров и группой пациентов с ИЭ по полиморфизму rs3775073 TLR6. По нашим данным, данная синонимичная мутация в первом экзоне TLR6 приводит к уменьшению риска развития ИЭ в среднем в 2 раза (ОШ = 0,51, 95% ДИ = 0,26-0,97; $p = 0,032$ в соответствии с рецессивной моделью наследования). Другой анализируемый нами несинонимичный полиморфизм, в том же первом экзоне TLR6 (C745T, rs5743810), также представляет определенный интерес, но связан с увеличением риска развития ИЭ.

Данная работа имела ряд ограничений. Вследствие низкой частоты ИЭ размер выборки относительно невелик, тем не менее, нам удалось провести исследование по связи наследственных межиндивидуальных различий с ИЭ, тогда как другими авторами подобные ассоциации описаны не были. Кроме того, нам в абсолютном большинстве (90 %) случаев не удавалось установить этиологический агент ИЭ, что могло повлиять на выбор полиморфных сайтов и генов системы TLR.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Hill A.V.S. Genetics and genomics of infectious disease susceptibility. Br Med Bull. 1999; 55(2): 401-413.
2. Yuzhalin AE, Kutikhin AG. Integrative systems of genomic risk markers of cancer and other diseases: future of predictive medicine. Cancer Manag Res. 2012; 4: 131-135.
3. Tyurin VP. Infective endocarditis: a guideline. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2012. 368 p. Russian (Тюрин, В.П. Инфекционные эндокардиты: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 368 с.).
4. San JA, Roman Lopez, Vilacosta IJ, Luaces M, Sarria C, Revilla A et al. Prognostic stratification of patients with left-sided endocarditis determined at admission. Am. J. Med. 2007; 120(4): 369-376.
5. Nikolaevskiy EN., Khubulava GG., Osadchuk MA. Efficacy of infective endocarditis combined treatment. Clinical medicine. 2006; 84(1): 57. Russian (Николаевский Е.Н., Хубулава Г.Г., Осадчук М.А. Эффективность комбинированного лечения инфекционного эндокардита //Клиническая медицина. 2006. Т. 84, № 1. С. 57.).
6. Ugidos PF. Prognostic scores and infective endocarditis. Crit. Care. 2013; 17(2): 42-48.
7. Konenkov VI, Smol'nikova MV. Structural basis and functional significance of the polymorphisms within genes encoding human cytokines and their receptors //Medical immunology. 2003; 5(1-2): 11-28. Russian (Коненков В.И., Смольникова М.В. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов //Медицинская иммунология. 2003. Т. 5, № 1-2. С. 11-28.).
8. Baranov VS. Genetic passport as a basis of individual and predictive medicine. St. Petersburg: N-L Publ., 2009. 528 p. Russian (Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л., 2009. 528 с.).
9. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. Immunity. 2011; 34(5): 637-650.
10. Ford JW, McVicar DW. TREM and TREM like receptors in inflammation and disease. Curr. Opin. Immunol. 2009; 21(1): 38-46.
11. Hamann L, Glaeser C, Hamprecht A, Gross M, Gomma A, Schumann RR. Toll-like receptor (TLR)-9 promotor polymorphisms and atherosclerosis. Clin. Chim. Acta. 2006; 364(1-2): 303-307.
12. Vallejo JG. Role of toll-like receptors in cardiovascular diseases. Clin. Sci. (Lond). 2011; 121(1): 1-10.
13. Koval'chuk LV, Svitich OA, Gankovskaya LV, Miroshnichenkova AM, Gankovskiy VA. The role of Toll-like receptors in pathogenesis of human infectious diseases. Kursk scientific-practical herald «Persons and his health». 2012; 2. Russian (Ковальчук Л.В., Свитич О.А., Ганковская Л.В., Мирошниченкова А.М., Ганковский В.А. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека //Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2012. № 2.
14. Baddour LM. Infective Endocarditis. Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications. Circulation. 2005; 111: 394-434.
15. Sole X, Guino E, Valls J, Iniest R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. Bioinformatics. 2006; 22(15): 1928-1929.
16. Bustamante J, Tamayo E, Florez S, Telleria JJ, Bustamante E, Lopez J. Toll-like receptor 2 R753Q polymorphisms are associated with an increased risk of infective endocarditis. Rev. Esp. Cardiol. 2011; 64(11): 1056-1059.

17. Skevaki C, Pararas M, Kostelidou K, Tsakris A, Routsias JG. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. Clin. Exp. Immunol. 2015; 180(2): 165-177.
18. Zeljic K, Supic G, Jovic N, Kozomara R, Brankovic-Magic M, Obrenovic M. Association of TLR2, TLR3, TLR4 and CD14 genes polymorphisms with oral cancer risk and survival. Oral Dis. 2014; 20(4): 416-424.

***Статья поступила в редакцию 25.08.2015 г.***

**Николенко В.В., Фельдблюм И.В., Захарова Ю.А., Воробьева Н.Н.**
*Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь*

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-ТЕСТА И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ВЕРИФИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ ПНЕВМОКОККОВЫХ ПНЕВМОНИЙ

Отсутствует сравнение эффективности полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммунохроматографического метода (ИХМ) в этиологической расшифровке тяжелых форм пневмококковых пневмоний, что затрудняет наиболее оптимальный выбор способа лабораторной диагностики для практического врача.
**Цель исследования** – сравнительная оценка специфичности и чувствительности ИХМ и ПЦР при верификации тяжелых форм пневмококковых пневмоний.
**Методы исследования.** Оценка чувствительности и специфичности ПЦР и ИХМ проведена на базе Краевой клинической инфекционной больницы г. Перми в 2012-2015 гг. при обследовании 32 пациентов, госпитализированных с тяжелыми формами внебольничных пневмоний. В качестве «золотого стандарта» использовали бактериологический метод.
**Основные результаты.** При диагностике пневмококковых пневмоний с помощью ИХМ установлены высокие показатели чувствительности – 84,2 % и специфичности – 92,3 %. Для ПЦР показатель чувствительности составил 73,6 %, специфичности – 69,2 %.
**Область применения.** Практическое здравоохранение.
**Заключение.** Исследования по диагностической значимости двух лабораторных тестов, используемых при верификации тяжелых форм пневмококковых пневмоний, показали несомненные преимущества ИХМ относительно ПЦР.

***Ключевые слова:*** *внебольничные пневмококковые пневмонии; иммунохроматографический метод; полимеразная цепная реакция.*

**Nikolenko V.V., Feldblyum I.V., Zakharova J.A., Vorob'eva N.N.**
*Perm State Medical University, Perm*

**COMPARATIVE EVALUATION OF SPECIFICITY AND SENSITIVITY OF THE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC EXPRESS TEST AND THE POLYMERASE CHAIN REACTION IN SEVERE PNEUMOCOCCAL PNEUMONIA VERIFICATION**

Comparative efficacy of the polymerase chain reaction (PCR) and the immunochromatographic method (ICM) in the etiological decoding of severe pneumococcal pneumonia is lacking, which hinders the optimal choice of the method of laboratory diagnosis for practitioners.
**The aim of the study** – the comparative evaluation of the specificity and sensitivity of PCR and ICM in severe pneumococcal pneumonia verification.
**Methods of investigation.** Evaluation of PCR and ICM sensitivity and specificity was conducted on the basis of Perm regional clinical infectious diseases hospital in 2012-2015, when 32 patients with severe community-acquired pneumonia were examined. As a «gold standard» bacteriological method was used.
**Results.** In diagnosis of pneumococcal pneumonia using ICM high sensitivity – 84,2 % and specificity – 92,3 % was set. PCR's sensitivity was 73,6 %, specificity – 69,2 %.
**Scope.** Practical health.
**Conclusion.** The study on diagnostic value of two laboratory tests used in severe pneumococcal pneumonia verification showed clear advantages of ICM with respect to PCR.

***Key words:*** *community-acquired pneumococcal pneumonia; immunochromatographic method; polymerase chain reaction.*

Пневмококковая внебольничная пневмония относится к числу наиболее распространенных поражений органов дыхания [1-3]. В России, согласно данным официальной статистики, среди населения старше 18 лет регистрируют до 440000 случаев в год внебольничных пневмоний, при которых

у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией летальность достигает 15-30 % [2, 3]. Одной из причин высокой летальности является недостаточно эффективная диагностика. Так, по данным отечественной литературы известно, что клинический диагноз внебольничной пневмонии в первые три дня болезни устанавливают лишь у 35 % заболевших, а этиологический диагноз отсутствует в 50-70 % случаев [3].

В связи с этим, совершенствование лабораторной диагностики пневмококковой пневмонии является актуальной эпидемиологической, клинической и микробиологической задачей [1, 3].

В настоящее время в России для верификации пневмококковых пневмоний, наряду с бактериологическим методом, нередко используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Преимуществами данного метода, как указывается в инструкции по применению, являются высокая чувствительность и возможность проведения анализа после начала антибактериальной терапии. Ряд отечественных авторов отмечают более высокую частоту обнаружения Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae) в патологическом материале, полученном от больных внебольничными пневмониями при использовании ПЦР в отличие от микробиологического метода. Так, с помощью ПЦР в мокроте пневмококк обнаруживали в 79 % случаев, а при бактериологическом посеве – лишь в 25 %. В крови частота обнаружения S. pneumoniae методом ПЦР составила 25 %, при этом ни в одном случае не удалось выделить возбудителя культуральным способом [4, 5]. По результатам других исследований при выявлении возбудителя в крови и спинномозговой жидкости методом ПЦР (в режиме реального времени с использованием наборов реагентов «АмплиСенс Neisseria meningitidis/Haemophilus influenzae/S. pneumoniae – FL»), положительный результат определяли в 77 % случаев, причем, в группе детей доля находок составила 66 %, а в группе взрослых – 88 % [6]. Однако, по данным зарубежных авторов, метод ПЦР по выявлению ауто- и пневмолизинов S. pneumoniae применяется ограниченно, поскольку чувствительность его по каждому показателю соответственно не превышает 82 % и 89 % при минимальной специфичности 27 % и 38 % [7].

В последние годы в России и за рубежом всё большую популярность приобретает иммунохроматографический метод (ИХМ). Его широко используют, прежде всего, при идентификации возбудителей, особо требовательных к условиям культивирования [2, 8-10]. Однако данные о сравнительной эффективности ПЦР и ИХМ в этиологической расшифровке пневмококковых инфекций отсутствуют, что затрудняет практическим врачам выбор наиболее оптимального способа лабораторной диагностики.

**Корреспонденцию адресовать:**
НИКОЛЕНКО Вера Валентиновна,
614000, г. Пермь, ул. Пушкина, д. 96,
ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России.
Тел.: 8 (3422) 36-45-66; +7-902-839-77-91.
E-mail: vvn73@yandex.ru

**Цель настоящего исследования** – сравнительная оценка специфичности и чувствительности иммунохроматографического метода и полимеразной цепной реакции при верификации тяжелых форм внебольничных пневмоний пневмококковой этиологии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе Краевой клинической инфекционной больницы г. Перми в 2012-2015 гг. Проведено клинико-лабораторное обследование 32 пациентов (от 18 до 62 лет), поступивших в стационар с диагнозом «Внебольничная пневмония, тяжелое течение». Инфекционный процесс у 21 пациента (65,6 %) был осложнен гнойным менингитом, у 11 (34,4 %) – сепсисом. У всех больных проведены общеклинические методы обследования (общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи и др.), а также рентгенография органов грудной клетки для подтверждения диагноза.

При верификации внебольничной пневмонии в каждом случае с помощью бактериологического метода до назначения антибактериальных препаратов исследовали мокроту, кровь, спинномозговую жидкость. Забор и транспортировку исследуемого материала проводили в соответствии с общепринятыми правилами и нормативными документами. Бактериологическое исследование выполняли классическим методом с оценкой морфологических особенностей возбудителя, характера роста на питательных средах и фенотипических характеристик.

Одновременно у пациентов проводили забор мочи (ИХМ для выявления антигена S. pneumoniae тест-системой «Binax NOW Alere Inc») и крови (ПЦР для выявления ДНК S. pneumoniae тест системой «АмплиСенс® N. meningitidis/H. influenzae /S. pneumoniae-FL»).

Для проведения ИХМ использовали тест-кассету, содержащую мембрану с нанесенными в виде двух отдельных полосок кроличьими антителами к антигену S. pneumoniae, козьими антителами против IgG кролика в комбинации с конъюгатом из кроличьих антител к антигену S. pneumoniae и антивидовых антител, конъюгированных с окрашенными частицами. Образцы мочи для исследования собирали в стандартные контейнеры. Положительный результат регистрировали через 10-15 минут по наличию двух окрашенных линий в зоне чтения. На отрицательный результат указывала одна окрашенная контрольная линия, свидетельствующая о том, что антиген S. pneumoniae в тестируемом образце не обнаружен.

ПЦР-исследование состояло из экстракции ДНК S. pneumoniae в исследуемых образцах, проведения ПЦР-амплификации с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» и интерпретации результатов в присутствии внутреннего контрольного образца.

Оценку чувствительности и специфичности ПЦР и ИХМ осуществляли с использованием четырехпольной таблицы по методу, изложенному в учеб-

ном пособии В.И. Покровского и Н.И. Брико [11]. В качестве «золотого стандарта» принят бактериологический метод.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Excel 2003, «BIOSTAT» для Windows (Microsoft).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования, из 32 человек с рентгенологически подтвержденной тяжелой формой внебольничной пневмонии, из крови и ликвора в 19 случаях (54,9 %) бактериологическим методом был выделен S. pneumoniae. Эти пациенты составили группу «случай». У оставшихся 13 человек этиология заболевания была обусловлена прочими возбудителями (Staphylococcus aureus у 9 человек и Haemophilus influenzae у 4). Они вошли в группу «контроль».

На первом этапе работы была проведена сравнительная оценка специфичности и чувствительности иммунохроматографического метода (ИХМ). Из 19 пациентов с бактериологически подтвержденным диагнозом «пневмококковая пневмония» (группа «случай») антиген S. pneumoniae в моче с помощью ИХМ был обнаружен у 15 человек (84,2 %), у 3 пациентов (15,8 %) экспресс-тест дал отрицательный результат (табл. 1).

При исследовании мочи у 13 пациентов с тяжелой формой пневмонии непневмококковой этиологии (группа «контроль») у 12 больных (92,3 %) пневмококковый клеточный полисахарид не был выявлен, и лишь у одного (7,7 %) экспресс-тест сработал положительно.

Чувствительность ИХМ составила 84,2 %, специфичность – 92,3 %, что согласуется с результатами отечественных и зарубежных авторов [2, 8, 9] и позволяет рекомендовать данный метод к широкому использованию в практическом здравоохранении.

**Таблица 1**
**Результаты лабораторного обследования больных внебольничными пневмониями с использованием бактериологического и иммунохроматографического методов исследования**
**Table 1**
**Results of laboratory inspection of patients with extra hospital pneumonia with use of bacteriological and immunochromatographic method of research**

| Экспресс-тест | Бактериологический метод исследования | | Всего |
|---|---|---|---|
| | S. pneumoniae выделен | S. pneumoniae не выделен | |
| Положительный результат | 16 | 1 | 17 |
| Отрицательный результат | 3 | 12 | 15 |
| Всего: | 19 | 13 | 32 |

Обследование этих же пациентов методом ПЦР определило ДНК пневмококка у 14 человек (73,6 %) в группе «случай» и у 4-х (30,7 %) в группе «контроль» (табл. 2). Показатель чувствительности оцениваемого метода составил 73,6 %, специфичности – 69,2 %.

Таким образом, нами было установлено, что по показателям чувствительности и специфичности метод ПЦР (молекулярно-биологический способ детекции ДНК S. pneumoniae) уступает методу ИХМ (иммунохроматографическому экспресс-тесту) в 1,1 и 1,2 раза, в результате чего у ПЦР ниже прогностическая ценность как положительного (75,4 % против 92,5 %), так и отрицательного (67,1 % против 83,7 %) результатов (табл. 3). Следовательно, положительный результат, полученный при использовании ИХМ, с большей достоверностью поможет лечащему врачу подтвердить пневмококковую этиологию тяжелой формы пневмонии, протекающей, как правило, с осложнениями и дающей высокие показатели леталь-

**Сведения об авторах:**
НИКОЛЕНКО Вера Валентиновна, канд. мед. наук, доцент, кафедра инфекционных болезней, ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия. E-mail: vvn73@yandex.ru
ФЕЛЬДБЛЮМ Ирина Викторовна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии, ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия.
ЗАХАРОВА Юлия Александровна, доктор мед. наук, доцент, кафедра эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии, ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия.
ВОРОБЬЕВА Наталья Николаевна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней, ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия.

**Information about authors:**
NIKOLENKO Vera Valentinovna, candidate of medical sciences, docent, department of infectious diseases, Perm State Medical University n.a. academician E.A. Wagner, Perm, Russia. E-mail: vvn73@yandex.ru
FELDBLYUM Irina Viktorovna, doctor of medical sciences, professor, head of department of epidemiology with a course of hygiene and epidemiology, Perm State Medical University n.a. academician E.A. Wagner, Perm, Russia.
ZAKHAROVA Julia Alexandrovna, doctor of medical sciences, docent, department of epidemiology with a course of hygiene and epidemiology, Perm State Medical University n.a. academician E.A. Wagner, Perm, Russia.
VOROB'EVA Natalya Nikolaevna, doctor of medical sciences, professor, head of department of infectious diseases, Perm State Medical University n.a. academician E.A. Wagner, Perm, Russia.

**Таблица 2**
**Результаты лабораторного обследования больных внебольничными пневмониями с использованием бактериологического метода и полимеразной цепной реакции**
**Table 2**
**Results of laboratory inspection of patients with extra hospital pneumonia with use of a bacteriological method and polymerase chain reaction**

| Полимеразная цепная реакция | Бактериологический метод исследования | | Всего |
|---|---|---|---|
| | S. pneumoniae выделен | S. pneumoniae не выделен | |
| Положительный результат | 14 | 4 | 18 |
| Отрицательный результат | 5 | 9 | 14 |
| Всего: | 19 | 13 | 32 |

ности, и своевременно назначить антибактериальную терапию. Напротив, при отрицательном результате ИХМ усилия лечащего врача будут направлены на купирование патологического процесса прочей этиологии, что особо актуально в условиях роста антибиотикорезистености возбудителей на современном этапе.

Значимым преимуществом ИХМ относительно других лабораторных методов является укорочение времени при верификации диагноза, так как экспресс-тест проводится в первые часы поступления пациента в стационар (у его постели) и занимает не более 20 минут [8, 12]. Полученный результат позволит качественно и своевременно провести специфическую антибактериальную терапию в первые часы госпитализации и избежать многочисленных осложнений (сепсис, вторичный гнойный менингит, плеврит, отек головного мозга). Метод может быть рекомендован пациентам с системной антибактериальной терапией, когда предшествующий прием химиопрепаратов существенно снижает информативность культурального исследования [3]. Следует отметить, что ИХМ может быть полезен для ретроспективного анализа заболевания (благодаря сохранению антигена возбудителя в течение 2 недель при температуре от 2-8°С до -20°С), что не может быть достигнуто при использовании классического бактериологического посева.

Несмотря на явные преимущества ИХМ, при выборе метода лабораторной диагностики пневмококковой инфекции лечащему врачу необходимо помнить о том, что отрицательный результат, полученный ИХМ, не исключает наличия заболевания. Поэтому для постановки точного диагноза нужно опираться на

**Таблица 3**
**Характеристика критериев валидности иммунохроматографического метода и полимеразной цепной реакции**
**Table 3**
**Characteristic of criteria of a validity of an immunochromatographic method and polymerase chain reaction**

| Критерии валидности | Величина критерия при ИХМ, % | Величина критерия при ПЦР, % |
|---|---|---|
| Чувствительность | 84,2 | 73,6 |
| Специфичность | 92,3 | 69,2 |
| Распространенность | 53,1 | 56,2 |
| Точность теста | 87,5 | 71,8 |
| Прогностическая ценность при отрицательном результате | 83,7 | 67,1 |
| Прогностическая ценность при положительном результате | 92,5 | 75,4 |
| Отношение правдоподобия положительного результата | 10,5 | 2,3 |
| Отношение правдоподобия отрицательного результата | 0,17 | 0,39 |

клинические симптомы заболевания, инструментальные методы исследования, использовать экспресс-тест в сочетании с микробиологическим методом, по возможности – другие лабораторные методы этиологической диагностики пневмонии [3, 8]. Кроме того, перед применением ИХМ следует выяснить, не был ли пациент вакцинирован против пневмококковой инфекции в ближайшие 48 часов в связи с высокой вероятностью ложноположительного результата в течение 5 дней после специфической профилактики [3, 10, 11]. На достоверность ИХМ может оказать влияние присутствие в респираторном тракте пациента Streptococcus mitis – представителя нормофлоры человека, имеющего перекрестные антигены со S. pneumoniae.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные нами исследования по диагностической значимости двух лабораторных тестов, используемых при верификации тяжелых форм пневмококковых пневмоний, показали несомненные преимущества ИХМ относительно ПЦР. Использование ИХМ, благодаря высокой специфичности и чувствительности, позволит получить надежные результаты по этиологической расшифровке заболевания и своевременно назначить адекватную антимикробную терапию.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Baranov AA, Briko NI, Namazova - Baranova LS. Modern clinical and epidemiological characteristics of pneumococcal infection. Vrach. 2012; (4): 79-84. Russian (Баранов А.А., Брико Н.И., Намазова-Баранова Л.С. Современная клинико-эпидемиологическая характеристика пневмококковых инфекций. Лечащий врач. 2012. № 4. С. 79-84.).
2. Bilichenko TN, Argunov AN, Antonova OA, Solovyov KI, Gladin SA, Nikitina NN et al. The frequency of pneumococcal pneumonia in adult patients of therapeutic hospitals in three regions of the Russian Federation. Pulmonology. 2013; (4): 29-36. Russian (Биличенко Т.Н., Аргунова А.Н., Антонова О.А.,

Соловьев К.И., Гладин С.А., Никитина Н.Н. и др. Частота пневмококковой пневмонии у взрослых больных терапевтических стационаров на трех территориях Российской Федерации. Пульмонология. 2013. № 4. С. 29-36.).

3. Chuchalin AG, Sinkopalnikov AI, Kozlov RS, Tyurin IE, Rachina CA. Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for diagnosis, treatment and prevention. Clinical microbiology, antimicrob. chimiother. 2010; (3):186-225. Russian (Чучалин А.Г., Синкопальников А.И., Козлов Р.С., Тюрин И.Е., Рачина С.А. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2010. № 3. С. 186-225.).
4. Artyomova LV. Diagnostic value of PCR in deciphering the etiology of infections caused by opportunistic pathogens. Cand. Biol. sci. abstracts diss. M., 2005. 26p. Russian (Артемова Л.В. Диагностическая значимость ПЦР в расшифровке этиологии инфекций, вызванных условно-патогенными возбудителями: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М., 2005. 26 с.).
5. Martynova AV. Epidemiological aspects of pneumococcal infection and molecular and genetic characteristic of Streptococcus pneumonia. Dr. med. sci. abstracts diss. St-Petersburg, 2008. 37 p. Russian (Мартынова А.В. Эпидемиологические аспекты пневмококковых инфекций и молекулярно-генетическая характеристика Streptococcus pneumonia: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПБ. 2008. 37 с.).
6. Matosova SV, Parkina NV, Shipulina OYu, Chernyshov DV, Chentsov VB, Smirnova TYu et al. The etiological diagnosis of purulent meningitis and meningoencephalitis by polymerase chain reaction in real time: the materials VII of reports of All-Russian conference infection, Moscow, 2015. p. 216. Russian (Матосова С.В., Паркина Н.В., Шипулина О.Ю., Чернышов Д.В., Ченцов В.Б., Смирнова Т.Ю. и др. Этиологическая диагностика гнойных менингитов и менингоэнцефалитов методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени //Матер. VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. М., 2015. С. 216).
7. Butler JC, Hofmann J, Cetron MS. The continued emergence of drug-resistant Streptococcus pneumonia in the United States: an update from the Centers for Disease Control and Preventions Sentinel Surveillance System. J. Infect. Dis. 1996; 174: 986-993.
8. Nikolenko VV, Feldblyum IV, Vorobyova NN, Golodnov SO, Semerikov VV, Polushkina AV et al. Experience of using immunoassay for the diagnosis of pneumococcal pneumonia. J. of microbiol, epidemiol and immunolog. 2015; (3): 18-24. Russian (Николенко В.В., Фельдблюм И.В., Воробьева Н.Н., Голоднова С.О., Семериков В.В., Полушкина А.В. и др. Опыт использования иммунохроматографического теста для диагностики пневмококковой пневмонии. ЖМЭИ. 2015. № 3. С. 18-24.).
9. Dominguez J, Gali N, Blanco S. Detection of Streptococcus pneumonia antigen by a rapid immunochromatographic assay in urine samples. Chest. 2001; 119: 243-249.
10. Lionel A. Mandell, John G. Bartlett, Scott F. Dowell et al. Update of Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Immunocompetent Adults. Guidelines for CAP in Adults CID. 2003; 37: 1405-1433.
11. Pokrovsky VI, Briko NI. The general epidemiology with fundamentals of evidential medicine: the management to a practical training. M.: GEOTAR-Media, 2012. 496 p. Russian (Покровский В.И., Брико Н.И. Общая эпидемиология с основами доказательной медицины: руководство к практическим занятиям. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 496 с).

***Статья поступила в редакцию 23.10.2015 г.***

**Отдушкина Л.Ю.**
*Кемеровская государственная медицинская академия,*
*г. Кемерово*

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОККОВОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

**Предмет исследования.** Кишечный микробиоценоз относительно здоровых детей и детей с ВИЧ-инфекцией.
**Цель исследования** – изучение видового состава и факторов патогенности стафилококков и энтерококков, выделенных из кишечного биотопа детей с ВИЧ- инфекцией.
**Методы исследования.** Изучен микробиоценоз фекалий у 68 ВИЧ-инфицированных и 45 ВИЧ-негативных детей в возрасте от 1 мес. до 3 лет. Выделенные микроорганизмы идентифицировались по морфологическим, культуральным, биохимическим и патогенным свойствам.
**Результаты.** У всех ВИЧ-инфицированных и у ВИЧ-негативных детей в 100 % случаев высевался Enterococcus faecalis. Изучение биологических свойств энтерокккков позволило установить, что культуры Enterococcus faecalis, изолированные из толстой кишки ВИЧ-инфицированных детей, обладали более выраженными факторами агрессии. Количество штаммов энтерококков, обладающих липазной активностью, в основной группе было в 2,5 раза больше (22 %), чем в группе сравнения (9 %), а ДНКазная активность была присуща только энтерококкам, выделенным от ВИЧ-инфицированных детей (3 %). В 6 раз чаще в кишечном содержимом ВИЧ-позитивных детей определялись гемолизин-продуцирующие штаммы энтерококков. Видовой состав стафилококков у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных детей характеризовался отсутствием статистически значимых различий ($p > 0,05$), но количественный уровень стафилококков у ВИЧ-позитивных детей был в 10 раз меньше, чем у ВИЧ-негативных. Также отсутствовали отличия по распространенности таких факторов вирулентности, как продукция гемолизина, липазы и ДНКазы. При этом у детей с ВИЧ-инфекцией преимущественно выделяли штаммы с низкой и средней способностью продуцировать липазу. Штаммы от ВИЧ-негативных детей большей частью обладали низкой липазной активностью. Staphylococcus aureus, выделенный из

кишечного микробиоценоза ВИЧ-позитивных детей, чаще проявлял устойчивость к цефалоспоринам, но был более чувствителен к аминогликозидам, в то время как у ВИЧ-негативных детей данные штаммы были более чувствительны к фторхинолонам.
**Область применения.** Медицинская микробиология.
**Заключение.** Установлено, что среди всех выделенных стафилококков доминирующее положение занимали Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. xylosus; а среди энтерококков доминировали Enterococcus faecalis и E. faecium, как у ВИЧ-инфицированных, так и в группе сравнения. Энтерококки и стафилококки, выделенные из кишечника ВИЧ-инфицированных детей, обладают более высокой способностью к адгезии и инвазии, а также устойчивостью к антибиотикам.

***Ключевые слова:*** *микробиоценоз; стафилококки; энтерококки; биологические свойства; ВИЧ-инфекция.*

**Otdushkina L.Y.**
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF COCCOID MICROFLORA IN HIV–INFECTED CHILDREN**

**Objective.** Intestinal microbiocenosis of relatively healthy children and children with HIV infection.
**Aim** – study was to investigate the species composition and pathogenicity factors of staphylococci and enterococci isolated from intestinal biotope of children with HIV infection.
**Methods:** faecal was studied in 68 HIV-infected and 45 HIV-negative children aged from 1 month to 3 years. Isolated microorganisms were identified by morphological, cultural, biochemical and pathogenic properties.
**Results.** All HIV-infected and HIV-negative children in 100 % of cases were inoculated Enterococcus faecalis. The biological properties of enterococcus has allowed to establish that culture of Enterococcus faecalis isolated from the colon of HIV-infected children had a more pronounced aggression factors. The number of strains of enterococci having lipanoi activity in the main group was 2,5 times more (22 %) than in the comparison group (9 %), and DNA activity was unique to enterococci isolated from HIV-infected children (3 %). 6 times more frequent than in the intestinal content of HIV-positive children were determined hemolysin producing strains of enterococci. Species composition of staphylococci in HIV-infected and HIV-negative children characterized by a lack of statistically significant differences ($p > 0,05$), but the quantitative levels of Staphylococcus in HIV-positive children was 10 times less than HIV-negative children. There was also no difference in the prevalence of these virulence factors like production of hemolysin, lipase and DNase. From children with HIV infection was mainly identified strains with low and medium ability to produce lipase. Strains from HIV-negative children mostly had low lipanoi activity. Staphylococcus aureus isolated from intestinal microbiota of HIV-positive children more frequently exhibited resistance to cephalosporin, but was more sensitive to aminoglycosides, while in HIV-negative children these strains were more sensitive to fluoroquinolones.
**Field.** Medical Microbiology
**Conclusion.** It is established that among all isolated staphylococci dominant position was occupied by Staphylococcus aureus, S. epidermidis, S. xylosus; and among the enterococci was dominated by Enterococcus faecalis and E. faecium as in HIV-infected and the comparison group. Enterococci and staphylococci isolated from the intestine of HIV-infected children have a higher capacity for adhesion to and invasion and resistance to antibiotics.

***Key words:*** *microbiocenosis; staphylococcus; enterococcus; biological; HIV-infection.*

Согласно гипотезе «нарушенной микрофлоры» основным фактором, запускающим оппортунистические инфекции (ОИ) у пациентов с ВИЧ-инфекцией, является нарушение нормальной микрофлоры – естественной защиты против ОИ. Микрофлора у таких пациентов нарушается из-за длительного использования антибиотиков широкого спектра, а также противопаразитарных препаратов и, возможно, препаратов с цитостатическим эффектом (АРТ) [1]. Истощение нормальной микрофлоры делает экологические ниши свободными, и они легко заселяются микроорганизмами, которые обычно присутствуют в умеренных количествах в организме и в окружающей среде [2]. По данным литературы, к доминантным микросимбионтам, обеспечивающим колонизационную резистентность слизистых, помимо бифидобактерий, лактобацилл и типичных кишечных палочек, относят энтерококки. В составе же факультативной микрофлоры довольно часто присутствуют стафилококки.

**Корреспонденцию адресовать:**
ОТДУШКИНА Лариса Юрьевна,
650029, Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а,
ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России.
Тел.: 8 (3842) 73-28-71.
E-mail: micro@kemsma.ru

На сегодняшний день остается открытым вопрос о роли кокковой флоры в развитии ОИ у ВИЧ-инфицированных детей. В большинстве случаев данные микроорганизмы изучаются как микросимбионты у ВИЧ-негативных пациентов. При этом структура энтерококков и стафилококков, распространенность факторов вирулентности, антибиотикорезистентность штаммов у ВИЧ-инфицированных пациентов до настоящего времени изучены недостаточно, что затрудняет разработку эффективных мер по предупреждению развития у таких детей вторичных осложнений энтерококковой и стафилококковой этиологии [3-7].

**Цель настоящего исследования** – изучение видового состава и факторов патогенности стафилококков и энтерококков, выделенных из кишечного биотопа детей с ВИЧ-инфекцией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучен микробиоценоз кишечника у 68 детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией. Диагноз ВИЧ-инфекции был поставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (перинатальный контакт), и подтвержден результатами ИФА, ПЦР, иммуноблотинга. Группу сравнения составили 45 ВИЧ-негативных относительно здоровых детей. Группы бы-

ли сопоставимы по возрасту (средний возраст составил 2,3 ± 0,2 года) и полу.

Объектом исследования были 157 штаммов энтерококков (95 культур, выделенных из содержимого толстой кишки ВИЧ-инфицированных детей, и 62 культуры от ВИЧ-негативных детей) и 114 штаммов стафилококков (57 культур, изолированные от ВИЧ-инфицированных, и 57 культур – от ВИЧ-негативных детей).

Выделение энтерококков и стафилококков осуществляли общепринятыми методами. Идентификацию проводили на основании морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств. Биохимический профиль стафилококков изучали с использованием коммерческих тест-систем ПБДС, энтерококков – ЭН-КОККУСтест (Erba Lachema). Адгезивные свойства микроорганизмов изучали согласно методике В.И. Брилиса (1989). Липолитическую, ДНКазную, гемолитическую активности энтерококков и стафилококков исследовали методом посева на Trybuthirit Base Agar (HiMedia), DNA Base Agar (HiMedia) и кровяной мясо-пептонный агар.

Количественную характеристику липазной активности изучали спектрофотометрическим методом с использованием набора «LIPASA liquicolor» на приборе СФ-2000. Кинетику выделения данного фермента наблюдали через 30, 60 и 90 мин от начала опыта. Штаммы с низкой липазной активностью считали при значениях 0-30 Е/л, со средней липазной активностью – 31-60 Е/л, с высокой липазной активностью – 61 Е/л и более. Чувствительность к антибактериальным препаратам осуществляли дискодиффузионным методом на среде Мюллер-Хилтона с использованием стандартных коммерческих дисков с амикацином, ципрофлоксацином, гентамицином, цефтриаксоном, цефазолином, левомицетином.

На начальном этапе статистической обработки осуществляли формирование базы данных, включающей информацию о видовом составе и количественном уровне кокковой микрофлоры, их адгезивных характеристик, а также о распространенности и уровне экспрессии факторов вирулентности среди условно-патогенных бактерий. Количественные признаки представлены в виде M ± m, где M – среднее арифметическое, m – ошибка средней величины.

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение BXXR 006BO92218 FAN11). Характер распределения переменных величин в рассматриваемой совокупности определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Для определения значимости различий между двумя несопряженными совокупностями использовали критерий $\chi^2$. Для анализа связей между колонизационным уровнем бактерий и их адгезивной активностью применяли коэффициент корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что видовая структура энтерококков у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных детей характеризовалась отсутствием статистически значимых различий ($p > 0,05$). У всех ВИЧ-инфицированных и у ВИЧ-негативных детей в 100 % случаев высевался Enterococcus faecalis, кроме того у детей сравниваемых групп в 39,7 % и 37,7 % случаев, соответственно, встречался также Enterococcus faecium. Однако интенсивность колонизации слизистой кишечника данными бактериями у детей основной группы была статистически выше и составила 7,5 ± 0,4 lg КОЕ/г против 6,4 ± 0,2 lg КОЕ/г у детей группы сравнения ($p < 0,05$).

Изучение факторов вирулентности энтерококков, изолированных из кишечника ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных детей, позволило выявить значительные отличия в их адгезивной активности. Так у ВИЧ-инфицированных детей 22 % штаммов оказались высоко адгезивными. В группе сравнения высокой способностью к адгезии обладали только 4,4 % штаммов. В большинстве случаев в сравниваемых группах энтерококки были представлены среднеадгезивными штаммами (46 % и 20 %, соответственно) с доминированием культур, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией. Доля штаммов с низкой способностью к адгезии у ВИЧ-позитивных детей не превышала 15 %, в группе сравнения – 10 %. На долю неадгезивных штаммов энтерококков в основной группе приходилось в 5 раз больше культур, чем в группе сравнения (16 % и 3 %, соответственно). При этом установлено, что связь между адгезивной активностью Enterococcus faecalis и интенсивностью колонизации слизистой отсутствовала ($r = 0,14$; $p > 0,05$), что позволяет говорить о наличии специфических механизмов поддержания определенного популяционного уровня у данных микроорганизмов.

Изучение биологических свойств энтероккоков позволило установить, что культуры Enterococcus faecalis, изолированные из толстой кишки ВИЧ-инфицированных детей, обладали более выраженными факторами агрессии. Так, количество штаммов энтерококков, обладающих липазной активностью, в основной группе было в 2,5 раза больше (22 %), чем в группе сравнения (9 %), а ДНКазная активность была присуща только энтерококкам, выделенным от ВИЧ-инфицированных детей (3 %). В 6 раз чаще в кишечном содержимом ВИЧ-позитивных детей определялись гемолизин-продуцирующие штам-

**Сведения об авторах:**
ОТДУШКИНА Лариса Юрьевна, заочный аспирант, ассистент, кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: micro@kemsma.ru

мы энтерококков (19 % и 3 %, соответственно, $p < 0,001$). Полученные результаты позволяют сделать вывод, что фекальные энтерококки у детей с ВИЧ-инфекцией могут играть этиологическую роль в возникновении гнойно-воспалительных процессов.

Кроме того, у обследованных детей сравниваемых групп установлена высокая распространенность микроорганизмов рода Staphylococcus, которые обнаруживались у них в 100 % случаев, при этом в 26,7 % случаев у одного ребенка выделяли по два и более видов стафилококков. Видовой состав стафилококков у ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-негативных детей характеризовался отсутствием статистически значимых различий ($p > 0,05$). Наиболее часто встречался Staphylococcus aureus, доля которого составила 33,3 % и 40 %, соответственно. В 25 % случаев у ВИЧ-инфицированных детей обнаруживался Staphylococcus xylosus, в группе сравнения – в 27 % случаев. Однако Staphylococcus epidermidis у ВИЧ-позитивных детей высевался в 2 раза реже по сравнению с ВИЧ-негативными детьми (11 % и 27 % случаев, соответственно). Кроме того, у детей сравниваемых групп с небольшой частотой высевались и другие виды стафилококков: Staphylococcus intermedius (8 % и 6,7 %, соответственно), Staphylococcus lentus (9,3 % и 6,7 %, соответственно), Staphylococcus simulans (6,7 % и 2,1 %, соответственно). При этом отмечено, что при ВИЧ-инфекции видовая структура стафилококков была более разнообразна и, кроме вышеуказанных видов, встречались также Staphylococcus haemolyticus (4 %) и Staphylococcus cohnii (2,4 %).

В целом, количественный уровень стафилококков был в 10 раз меньше у ВИЧ-позитивных детей, чем у ВИЧ-негативных, и составил $5,2 \pm 0,3$ lg КОЕ/г против $6,5 \pm 0,4$ lg КОЕ/г, соответственно ($p < 0,05$). Более низкий уровень колонизации слизистой кишечника стафилококками при ВИЧ-инфекции связан, вероятно, с более выраженными межвидовыми конкурентными взаимоотношениями стафилококков, поскольку у ВИЧ-негативных детей видовой состав стафилококков был менее разнообразным.

Несмотря на то, что в сравниваемых группах доля Staphylococcus aureus в общей структуре стафилококков была практически одинаковой, тем не менее, у детей с ВИЧ-инфекцией количественный уровень данных микроорганизмов был статистически выше и составил $7,2 \pm 0,4$ lg КОЕ/г против $5,9 \pm 0,4$ lg КОЕ/г у ВИЧ-негативных ($p < 0,01$). При этом уровень колонизации слизистой Staphylococcus epidermidis у ВИЧ-позитивных был на 2 lg меньше, чем у детей группы сравнения ($5,2 \pm 0,2$ lg КОЕ/г против $7,1 \pm 0,4$ lg КОЕ/г, соответственно, $p < 0,01$), а содержание Staphylococcus xylosus в сравниваемых группах было одинаковым и составило $6,2 \pm 0,3$ lg КОЕ/г.

В связи с тем, что возникновение оппортунистических инфекций связывают с увеличением уровня экспрессии факторов патогенности условно-патогенной микрофлоры при развитии иммунодефицита [8], у стафилококков, изолированных из кишечника ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных детей, были изучены факторы вирулентности. Установлено отсутствие статистически значимых отличий по структуре адгезивной активности стафилококков ($\chi^2 = 0,15$; $p > 0,05$). Так, у ВИЧ-инфицированных детей 34,7 % штаммов были высоко адгезивными, в группе сравнения высокой способностью к адгезии обладали 33,3 % штаммов стафилококков. В большинстве случаев стафилококки в сравниваемых группах были среднеадгезивными (37,3 % и 42,2 %, соответственно). Доля штаммов с низкой способностью к адгезии у ВИЧ-позитивных детей не превышала 18,7 %, в группе сравнения – 17,8 %. Неадгезивными были 9,3 % стафилококков от детей основной группы и 6,7 % штаммов от детей группы сравнения.

Также отсутствовали отличия по распространенности таких факторов вирулентности, как продукция гемолизина, липазы и ДНКазы ($\chi^2 = 0,12$; $p > 0,05$). Гемолизин продуцировали 91 % штаммов стафилококков, выделенных от ВИЧ-позитивных детей и 89 % штаммов от здоровых детей. ДНКазной активностью характеризовались 22,7 % стафилококков от детей с ВИЧ-инфекцией и 24,4 % штаммов от ВИЧ-негативных детей. Липазной активностью обладали 76 % стафилококков в основной группе и 56 % штаммов в группе сравнения ($p > 0,05$). Однако количественная оценка липазной активности показала статистически значимые отличия по данному признаку ($p < 0,05$). Среднее значение липазной активности у стафилококков, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией, составило 39,49 Е/л, тогда как в группе сравнения данный показатель не превышал 18,69 Е/л. При этом от детей с ВИЧ-инфекцией преимущественно выделяли штаммы с низкой (60 %) и средней (33,3 %) способностью продуцировать липазу. На долю штаммов с высокой липазной активностью приходилось только 6,7 % культур. 84,6 % штаммов от ВИЧ-негативных детей обладали низкой липазной активностью, а средней – только 7,7 % стафилококков. По некоторым данным липаза стафилококков выполняет роль не только фермента инвазии, но также используется как адгезин [9].

Результаты определения чувствительности выделенных штаммов стафилококков к антибиотикам у ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных детей были статистически недостоверны, однако количество штаммов, резистентных к антибиотикам, преобладало у ВИЧ-инфицированных детей. Так, Staphylococcus aureus среди всех выделенных штаммов у ВИЧ-инфицированных в 55 % случаев был устойчив к одному антибиотику, в 20 % – к двум, в 25 % – к трем. При этом встречались штаммы (по 5 %), резистентные к 4 и 5 антимикробным препаратам. Среди штаммов Staphylococcus aureus, изолированных от ВИЧ-негативных детей, устойчивых к 5 антибиотикам не

**Information about authors:**
OTDUSHKINA Larisa Yurevna, postgraduate student, assistant, department of microbiology, immunology and virusology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: micro@kemsma.ru

выявлено, а процент штаммов, чувствительных к 2 и 3 препаратам был ниже, и составил 9,5 %. Количество культур, устойчивых к двум антибиотикам, не отличалось от опытной группы (24 %), но штаммов, устойчивых к одному препарату, было меньше в 1,4 раза (38 %). Staphylococcus xylosus был менее резистентным к изучаемым антибиотикам в обеих группах. При этом наибольшая устойчивость данного вида к антимикробным препаратам была отмечена у ВИЧ-положительных детей с доминированием резистентных штаммов к трем антибиотикам. Среди штаммов, выделенных от ВИЧ-негативных детей, 39,5 % обладали чувствительностью ко всем антибиотикам. Staphylococcus epidermidis проявлял максимальную устойчивость к четырем антимикробным препаратам с преобладанием резистентных штаммов у ВИЧ-позитивных детей и, преимущественно, к одному антибиотику (33 % против 9 % в группе сравнения). При этом в сравниваемых группах определялись чувствительные штаммы ко всем антимикробным препаратам, составившие у ВИЧ-позитивных детей 16 %, а у ВИЧ-негативных их было в 4 раза больше – 64 % (табл.).

Полученные результаты показали, что Staphylococcus aureus, выделенный из кишечного микробиоценоза ВИЧ-позитивных детей, чаще проявлял устойчивость к цефалоспоринам, но был более чувствителен к аминогликозидам, в то время как у ВИЧ-негативных детей данные штаммы были более чувствительны к фторхинолонам. Staphylococcus xylosus в сравниваемых группах в равной степени был устойчив к цефалоспоринам. Staphylococcus epidermidis, выделенный у ВИЧ-инфицированных детей, обладал большей устойчивостью к фторхинолонам.

**Таблица**
**Удельный вес штаммов стафилококков, резистентных к антибиотикам (в %)**
**Table**
**The specific gravity of Staphylococcus strains resistance to antibiotics (in %)**

| Резистентность | S. aureus | | S. xylosus | | S. epidermidis | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ВИЧ-позитив | ВИЧ-негатив | ВИЧ-позитив | ВИЧ-негатив | ВИЧ-позитив | ВИЧ-негатив |
| К 1 антибиотику | 55 | 38 | 29 | 22 | 33 | 9 |
| К 2 антибиотикам | 20 | 24 | 7 | 11 | 17 | 9 |
| К 3 антибиотикам | 25 | 9,5 | 36,7 | 11 | 17 | 9 |
| К 4 антибиотикам | 5 | 9,5 | 14,3 | 0 | 17 | 9 |
| К 5 антибиотикам | 5 | 0 | 7 | 5,5 | 0 | 0 |
| К 6 антибиотикам | 0 | 0 | 7 | 11 | 0 | 0 |

## ВЫВОДЫ:

1. Энтерококки и стафилококки, выделенные из кишечника ВИЧ-инфицированных детей, обладают более высокой способностью к адгезиии и инвазии, что повышает вероятность развития гнойно-воспалительных осложнений у данной категории лиц.
2. Липаза является не только фактором инвазии, но, при недостатке структурных адгезинов, может участвовать в адгезии микросимбионтов, что позволяет им достигать более высокого количественного уровня и быть причиной возникновения оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных детей.
3. Стафилококки, выделенные из кишечника ВИЧ-инфицированных детей, проявляют большую резистентность к антибактериальным препаратам (преимущественно к группе цефалоспоринов), что необходимо учитывать при выборе препаратов для лечения таких больных.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENS:

1. Jorge O. Alarcon, Laura Freimanis-Hance et al. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States. AIDS Research and human retroviruses. Mary Ann Liebert, Inc. 2012; 28(3): 1226-1233.
2. Alberto Novaes Ramos Jr, Luiza Harunari Matida et all. AIDS patient care and STDs. Mary Ann Liebert, Inc. 2011; 25(4): 176-223.
3. Gabrielyan NI, Gorskaya EM, Spirina TS et al. Enterococci as causative agents of infectious postoperative complications. J. Microbiology, epidemiology and immunology. 2007; (4): 50-53. Russian (Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Спирина Т.С. и др. Энтерококки как возбудители инфекционных послеоперационных осложнений //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2007. № 4. С. 50-53).
4. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. Clin. Microbiol. Rev. 1994; 7(4): 462-478.
5. Bukharin OV, Balysheva VI, Kartashova OL, Sycheva MV. Characteristics of the virulence potential of clinical isolates of enterococci. J. Microbiology, epidemiology and immunology. 2013; (3): 12-18. Russian (Бухарин О.В., Валышева И.В., Карташова О.Л., Сычева М.В. Характеристика вирулентного потенциала клинических изолятов энтерококков //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2013. № 3. С. 12-18.).
6. Valyshev AV. Antimicrobial compounds of enterococci. J. Microbiology, epidemiology and immunology. 2014; (5): 119-126. Russian (Валышев А.В. Антимикробные соединения энтерококков //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 5. С. 119-126.).
7. Priyatkin RG, Kuzmenko OM. Synthesized proteins of Staphylococcus aureus. J. Microbiology, epidemiology and immunology. 2010; (4): 118-124. Russian (Приятkин Р.Г., Кузьменко О.М. Секретируемые белки Staphylococcus aureus //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2010. № 4. С. 118-124.).
8. Shamsudinov AF, Tyurin YA. Protein toxins of Staphylococcus aureus, J. Microbiology, epidemiology and immunology. 2014; (2): 113-120. Russian (Шамсудинов А.Ф., Тюрин Ю.А. Белковые токсины Staphylococcus aureus //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 2. С. 113-120).
9. Joseph B, Ramteke P, Kumar P et al. Studies on the enhanced production of extracellular lipase by Staphylococcus epidermidis. J. General and Applied Microbiology. 2006; 52: 315-320.

*Статья поступила в редакцию 22.09.2015 г.*

**Баянова Т.А., Ботвинкин А.Д.**
*Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск*

# АНАЛИЗ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ НА ФОНЕ ЭПИДЕМИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

**Цель** – проанализировать влияние ВИЧ-инфекции на смертность населения в регионе с высокой превалентностью ВИЧ-инфекции.
**Материалы и методы.** Проведено ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование по сплошным выборкам данных государственной статистики по Иркутской области за 2000-2012 гг.
Для изучения влияния ВИЧ-инфекции на смертность населения использовали сравнение показателей, стратифицированных по полу и возрастным группам с учетом ранее опубликованных данных по заболеваемости ВИЧ-инфекцией.
Распределение по причинам смерти в данном сообщении оценивали по следующим показателям: 1) число умерших в течение года из числа зарегистрированных больных ВИЧ-инфекцией; 2) число умерших по причине «ВИЧ-инфекция».
**Результаты.** Доля ВИЧ-инфекции в качестве причины смерти в 2012 г. составила 1,3 % от общей смертности населения Иркутской области и 31,3 % от величины показателя смертности от всех инфекций и инвазий. Около 50 % людей в возрасте 20-39 лет умерли по причине «ВИЧ-инфекции» (от числа умерших по классу I).
**Заключение.** Влияние ВИЧ-инфекции на смертность совокупного населения отчетливо прослеживается в классе I: показатель смертности по причине «ВИЧ-инфекция» соответствует примерно 1/3 части показателя смертности от всех инфекционных и паразитарных болезней.
При стратификации статистических показателей по возрасту и полу повышение смертности преимущественно среди мужчин в возрасте 30-39 лет.

***Ключевые слова:*** *ВИЧ-инфекция; смертность; Иркутская область.*

**Bayanova T.A., Botvinkin A.D.**
*Irkutsk State Medical University, Irkutsk*

**ANALYSIS OF POPULATION MORTALITY IN IRKUTSK REGION ON THE BACKGROUND OF HIV EPIDEMIC**

**Purpose** – estimation of HIV-infection influence on population mortality in the region with high prevalence of HIV-infection.
**Materials and methods.** Retrospective descriptive epidemiological study had been conducted on the base of whole sample of state statistic for the Irkutsk region in 2000-2012. To study the effect of HIV infection on mortality was used comparison of indicators of stratified by sex and age group considering earlier published data on the incidence of HIV infection. The distributions of causes of death in this report were evaluated by the following indicators: 1) the number of deaths within a year of the number of registered patients with HIV infection; 2) the number of deaths due to «HIV».
**Results.** The proportion of HIV as a cause of death in 2012 composed 1,3 % of the total mortality in the Irkutsk region and 31,3 % of the mortality within class1 (infections and invasions). About 50 % of people aged 20-39 years died due to HIV infection (among all deaths in the class I).
**Conclusions:** The impact of HIV infection on the mortality of the total population is clearly traced in Class I: the death rate due to «HIV» corresponds to about 1/3 of mortality from all Infectious or parasitic disease. Most increasing of mortality is noted mainly among males aged 30-39 years after stratification of mortality rate by age and sex.

***Key words:*** *HIV-infection; mortality; Irkutsk Region.*

Проблема ВИЧ-инфекции, несмотря на достигнутые успехи в профилактике, своевременной диагностике и лечении, остается крайне актуальной. По опыту многих стран, распространение ВИЧ-инфекции может привести к существенным изменениям показателей и структуры смертности населения [1, 2]. В Российской Федерации (РФ) эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции продолжает ухудшаться, показатель пораженности в 2014 г. составил 494,6 на 100 тысяч населения [3]. Сохраняется высокий уровень заболеваемости, увеличивается общее число больных ВИЧ-инфекцией и число умерших в данной когорте населения. Соответственно, возрастает доля ВИЧ-инфекции в структуре смертности населения России, в том числе от инфекционных и паразитарных заболеваний [4, 5]. Именно ВИЧ-инфекция сегодня является ведущей причиной смерти людей молодого возраста [6].

Иркутская область остается одним из наиболее пораженных ВИЧ субъектов РФ: в 2014 г. «число людей, живущих с ВИЧ» достигло 1438,6 на 100 тысяч населения [3, 7]. Со времени внезапного подъема заболеваемости в 1999 г. прошло 15 лет, и за это время значительная часть больных, инфицированных в начале эпидемии, уже умерла. Среди больных ВИЧ-инфекцией в начале эпидемии преобладали мужчины и возрастные группы в диапазоне 20-29 лет [8, 9]. В настоящее время смертность от ВИЧ-инфекции в регионе более чем в три раза превышает этот показатель по РФ в целом [7, 9].

**Цель работы** – оценить влияние ВИЧ-инфекции на смертность населения в регионе с высокой пре-

**Корреспонденцию адресовать:**
БОТВИНКИН Александр Дмитриевич,
664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, д. 1.
Тел.: 8 (3952) 20-08-41.
E-mail: botvinkin_ismu@mail.ru

валентностью ВИЧ-инфекции на основе данных по многолетней динамике смертности и сравнения разных половозрастных групп.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование по сплошным выборкам статистических данных по Иркутской области. Исходные данные взяты из форм государственной статистической отчетности: формы С51 за 2000-2012 гг., формы № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекций» за 2007-2012 гг., и данных с официальных сайтов федерального и областного Центров СПИД [3, 7]. Для изучения влияния ВИЧ-инфекции на смертность населения использовали сравнение показателей, стратифицированных по полу и возрастным группам с учетом ранее опубликованных данных по заболеваемости ВИЧ-инфекцией [7, 9]. Распределение по причинам смерти в данном сообщении оценивали по следующим показателям: 1) число умерших в течение года из числа зарегистрированных больных ВИЧ-инфекцией; 2) число умерших по причине «ВИЧ-инфекция».

Для оценки степени связи показателей смертности и заболеваемости ВИЧ-инфекцией в динамике по годам использован парный коэффициент корреляции Спирмена. Полученные результаты подвергались статистической обработке с использованием пакета MS Excel 2010. Доверительные интервалы интенсивных показателей рассчитаны для 95 % уровня значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне снижения общей смертности населения с 1544,2 на 100 тыс. в 2000 г. до 1387,9 в 2012 г. ($p < 0,01$) показатель смертности по классу «Некоторые инфекционные и паразитарные заболевания» за анализируемый период, напротив, увеличился; прирост составил 44,9 %. Отмечена положительная корреляция с превалентностью ВИЧ-инфекции ($r = 0,80$; $p < 0,01$).

Сравнение многолетней динамики смертности совокупного населения Иркутской области от инфекций и инвазий (в целом) со смертностью по причине «ВИЧ-инфекция» свидетельствует о связи этих показателей ($r = 0,84$; $p < 0,01$). Линии тенденций практически параллельны; темпы прироста одновременно увеличились после 2007 г. (рис. 1).

В 2012 г. показатель смертности (на 100 тыс.) по причине «ВИЧ-инфекция» составил 31,3 % от величины общего показателя смертности от инфекций и инвазий. Всего в 2012 г. в Иркутской области умерли 33639 человек, в том числе у 446 в качестве основной причины в свидетельстве о смерти отмечена ВИЧ-инфекция, что составило 1,3 % от общего числа умерших (по данным формы С51).

Число больных ВИЧ-инфекцией, умерших за анализируемый период, неуклонно увеличивалось: в 2007 г. умерли 357 человек, в 2012 г. – 1371. За весь период наблюдения из числа зарегистрированных умерли 6847 больных ВИЧ-инфекцией, в том числе в стадии СПИД – 266 человек. Динамика показателя смертности на 1000 больных с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекция также характеризовалась тенденцией роста с различиями в крайних точках в 2,2 раза (33,8 на 1000 зарегистрированных больных в 2012 г. против 15,0 в 2007 г.).

По данным формы № 61, за период с 2007 г. по 2012 г. доля умерших, у которых ВИЧ-инфекция указана в свидетельстве о смерти в качестве основной, составляла около 40 %, умерших от СПИД – в 10 раз меньше.

Возрастная группа риска по ВИЧ-инфекции среди впервые выявленной заболеваемости – 30-39 лет [3, 7]. Аналогичная картина выявляется и при анализе данных государственной статистики по смертности населения по причине «ВИЧ-инфекция» (рис. 2).

Доля умерших с причиной смерти «ВИЧ-инфекция» среди умерших от всех причин и, особенно, от инфекций и инвазий, в возрастных группах риска была существенно выше, чем среди совокупного населения. Около 50 % людей в возрасте от 20 до 39 лет, умерших от инфекций и инвазий, зарегистрированы в статистических сводках как умершие от ВИЧ-инфекции (табл. 1).

Сравнивали относительные показатели в разных стратах в динамике за 2008-2012 гг. и величину прироста (снижения) на начало и конец анализируемо-

**Таблица 1**
**Доля умерших по причине «ВИЧ–инфекция» в смертности населения Иркутской области в 2012 г. по данным Иркутскстата (число умерших, % среди умерших от всех причин и болезней класса 1)**
**Table 1**
**Perconlage of deaths due to «HIV» mortality Irkutsk region population in 2012 according Irkutskstat (number of deaths among deaths from all causes and diseases of class 1)**

| Причины смерти | Доля ВИЧ-инфекции в смертности различных групп населения | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Совокупное население | | 20-29 лет | | 30-39 лет | |
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| Все причины | 446 из 33639 | 1,3 | 93 из 1451 | 6,4 | 267 из 2794 | 9,5 |
| Инфекции и инвазии | 446 из 1423 | 31,3 | 93 из 200 | 46,5 | 267 из 537 | 49,7 |

**Сведения об авторах:**
БОТВИНКИН Александр Дмитриевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия. E-mail: botvinkin_ismu@mail.ru
БАЯНОВА Татьяна Александровна, канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра эпидемиологии, ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия.

**Рисунок 1**
**Многолетняя динамика смертности совокупного населения Иркутской области по классу «Некоторые инфекционные и паразитарные заболевания» и по причине «ВИЧ-инфекция» (на 100 тыс. населения)**
**Figure 1**
**Long-term dynamics population of mortality of the Irkutsk region due to «Certain infectious and parasitic diseases» and «HIV-infection» (in 100 thousand population)**

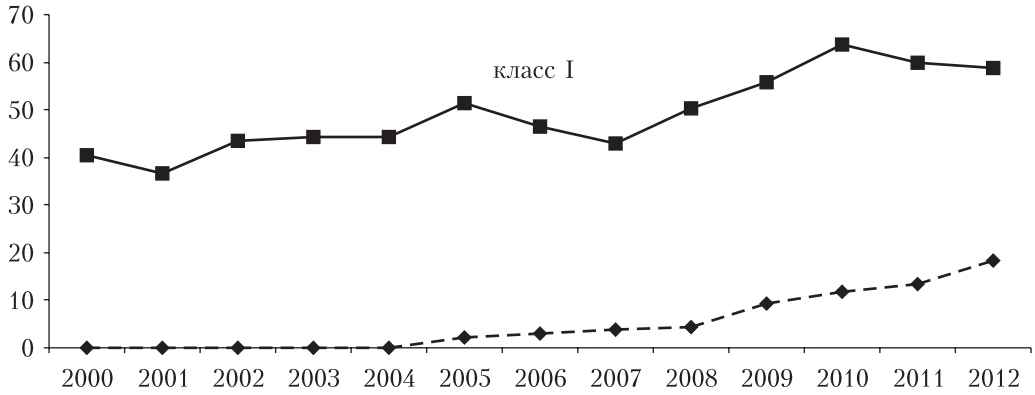
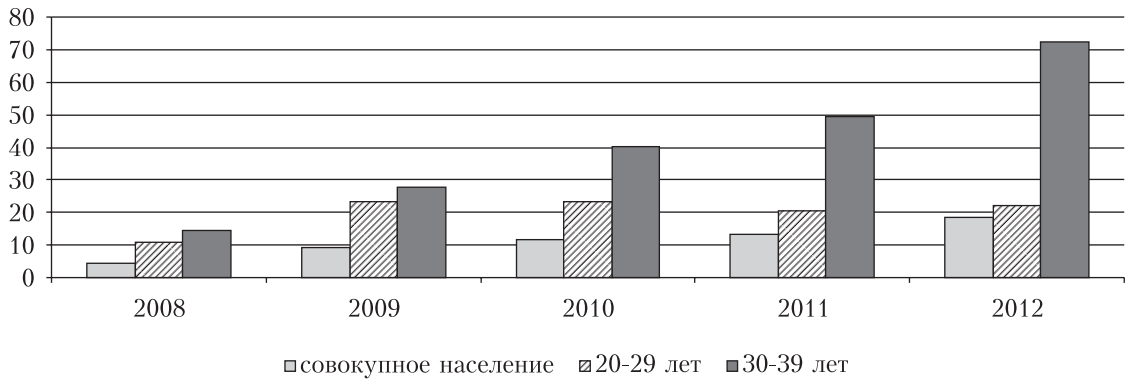



**Рисунок 2**
**Динамика смертности совокупного населения и в возрастных группах риска по причине «ВИЧ-инфекция» (на 100 тыс. населения)**
**Figure 2**
**Dynamics of population mortality in the age risk group due to HIV (in 100 thousand population)**



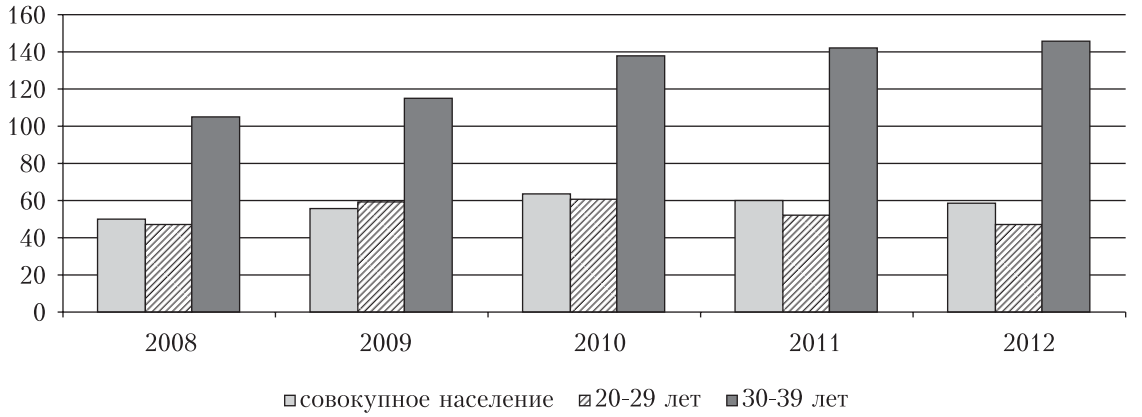

го периода. На фоне снижения показателей смертности от всех причин совокупного населения и людей в возрасте 20-29 лет, отмечен прирост общей смертности в возрастной группе 30-39 лет почти на 5 %. Аналогичная картина наблюдается при сравнении показателей за 2000 и 2012 годы: смертность в возрастной группе 20-29 лет снизилась на 39,8 %, в возрастной группе 30-39 лет прирост составил 2,6 %.

Наиболее значительные различия между возрастной группой 30-39 лет и другими группами населения отмечены для показателей смертности от инфекций и инвазий – прирост в этой группе был в два раза больше, чем для совокупного населения (рис. 3).

Известно, что в начале эпидемии ВИЧ-инфекции среди заболевших значительно преобладали мужчины [8, 9]. В 2012 г., при стратификации показателей смертности по полу, отчетливо прослеживаются различия между мужчинами и женщинами в возрастной группе 30-39 лет (табл. 2). В демографических сводках за разные годы, в том числе до начала эпидемии ВИЧ-инфекции, показатели смертности мужчин превышали показатели смертности женщин [10]. В 2012 г. общая смертность мужчин была на 48 % выше, чем смертность женщин – 1152,8 и 383,0 на 100 тыс., соответственно, но в возрастных группах риска по ВИЧ-инфекции эти различия были выражены значительно сильнее, особенно для инфекций и инвазий.

**Information about authors:**
BOTVINKIN Aleksandr Dmitrievich, doctor of medical sciences, professor, head of the department of epidemiology, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia. E-mail: botvinkin_ismu@mail.ru
BAYANOVA Tatyana Aleksandrovna, candidate of medical sciences, senior lecturer, department of epidemiology, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia.

**Рисунок 3**
**Динамика смертности по классу 1 «Некоторые инфекционные и паразитарные болезни» совокупного населения Иркутской области и в возрастных группах риска по ВИЧ (на 100 тыс. населения)**
**Figure 3**
**Mortality dynamics of Irkutsk region population due to «Certain infectious and parasitic diseases» and HIV age groups (in 100 thousand population)**




## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным государственной статистики вклад ВИЧ-инфекции, как основной причины смерти, в общий показатель смертности населения Иркутской области в 2012 г. составил 1,3 %. Очевидно, это не могло изменить тенденцию снижения общей смертности, обусловленную другими причинами. Однако влияние ВИЧ-инфекции на смертность совокупного населения отчетливо прослеживается в классе I: показатель смертности по причине «ВИЧ-инфекция» соответствует примерно 1/3 части показателя смертности от всех инфекционных и паразитарных болезней. При стратификации статистических показателей по возрасту и полу повышение смертности от причины «ВИЧ-инфекция» наиболее выражено среди мужчин возрастной категории 30-39 лет.

**Таблица 2**
**Стратифицированные по полу показатели смертности в возрастной группе 30–39 лет в Иркутской области в 2012 г. по данным Иркутскстата (по причинам смерти)**
**Table 2**
**Stratified by sex mortality rates in the age group 30–39 years in the Irkutsk region in 2012 according Irkutskstat (by cause of death)**

| Группы болезней | Показатель смертности (на 100 тыс. населения, в скобках 95% ДИ) | | Значимость различий (критерий t) |
|---|---|---|---|
| | мужчины | женщины | |
| Класс I | 225,4 (209,8÷241) | 69,9 (61,3÷78,5) | 17,4 |
| ВИЧ-инфекция | 102,1 (91,7÷112,5) | 44,1 (37,3÷50,9) | 8,7 |
| Все причины | 1152,8 (1117,8÷1187,8) | 383,0 (326,6÷403,2) | 38,1 |

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Liebman G, Makadon HD. HIV-infection: translation from English. M.: GEOTAR-Media Publ., 2012. 560 p. Russian (Либман Г., Макадон Х.Д. ВИЧ-инфекция: пер. с англ. под ред. А.И. Мазуса, Т.П. Бессараба. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 560 с.).
2. HIV-infection and AIDS: national guidelines. Pokrovsky VV, editors. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2013. 608 p. Russian (ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство /под ред. акад. РАМН В.В. Покровского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 608 с.).
3. Федеральный научно-методический Центр по профилактике и борьбе со СПИДом. Available at: www.hivrussia.ru
4. Shakhanina IL, Igonina EP. Trends in mortality from infectious diseases in Russia in the XX century. Epidemiology and infectious diseases, 2006; (3): 47-50. Russian (Шаханина И.Л., Игонина Е.П. Динамика смертности от инфекционных болезней в России в XX веке //Эпидемиология и инфекционные болезни. 2006. № 3. С. 47-50.).
5. Nechayeva OB. The impact of the HIV infection on the development of the epidemiological situation tuberculosis in Rassian Federation. J. Social aspects of health population. 2009. Avialable at: http://vestnik.mednet.ru (accessed 30.09.2015). Russian (Нечаева О.Б. Влияние ВИЧ-инфекции на развитие эпидемической ситуации по туберкулезу в Российской Федерации [электронный ресурс] //Социальные аспекты здоровья населения. Режим доступа: http://vestnik.mednet.ru (дата обращения 30.09.2015)).
6. Leonova ON, Rassokhin VV, Rakhmanova AG. Analysis of deaths in patients with HIV infections of the materials department of the palliative medicine. HIV infection and immunosuppression. 2009; (2): 63-68. Russian (Леонова О.Н., Рассохин В.В., Рахманова А.Г. Анализ летальных исходов у больных с ВИЧ-инфекцией по материалам отделения паллиативной медицины //ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009. Т. 1, № 2. С. 63-68.).
7. Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. Available at: www.spidcentr38.com
8. Lenok GV. HIV-infection – state of the art. Siberian Medical J. Irkutsk, 2009; (7): 142-145. Russian (Ленок Г.В. ВИЧ-инфекция – современное состояние проблемы //Сибирский медицинский журнал. Иркутск, 2009. № 7. С. 142-145.).
9. Plotnikova JK. A comprehensive approach to HIV prevention in the Irkutsk region in a complex epidemiological situation. The main trends and prospects of development of service //Baikal Week HIV infection 2013: Looking to the future: information newsletter. Irkutsk, 2013. p. 41-42. Russian (Плотни-

кова Ю.К. Комплексный подход к противодействию ВИЧ-инфекции в Иркутской области в условиях сложной эпидемической ситуации. Основные тенденции, перспективы развития службы //Байкальская неделя противодействия ВИЧ-инфекции 2013: Взгляд в будущее: информ. реклам. бюл. Иркутск, 2013. С. 41-42.).

10. Lisovtsov AA. Hygienic aspects of premature mortality Irkutsk region. Cand. med. sci. abstracts dis. Irkutsk, 2012. 23 p. Russian (Лисовцов А.А. Гигиенические аспекты преждевременной смертности населения Иркутской области: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2012. – 23 с.).

***Статья поступила в редакцию 12.10.2015 г.***

**Марковская А.А.**
*Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово*

# РОЛЬ ГРИБОВ РОДА CANDIDA В РАЗВИТИИ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

**Предметом исследования** явилось изучение микробиоценозов у 72 ВИЧ-инфицированных и 45 здоровых детей.
**Цель исследования** – изучение биологических свойств грибов рода Candida, выделенных из кишечного содержимого ВИЧ-инфицированных детей. Методы исследования. Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами. Были изучены факторы вирулентности и чувствительность к антимикотикам грибов рода Candida.
**Основные результаты.** Установлена распространенность бактериально-грибковых ассоциаций и их этиологическая структура в сравниваемых группах. В симбиотических ассоциациях грибы рода Candida высоко экспрессировали факторы вирулентности, обладали более низкой чувствительностью к антимикотикам.
**Область их применения.** Медицинская микробиология.
**Выводы.** Полученные данные раскрывают патогенетическую основу развития эндогенных инфекций у ВИЧ-инфицированных детей.

***Ключевые слова:*** *микробиоценоз; кандидоз; ассоциации; биологические свойства; антимикотики.*

**Markovskaya A.A.**
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*

**THE ROLE OF CANDIDA IN THE DEVELOPMENT OF HIV-INFECTED CHILDREN'S OPPORTUNISTIC INFECTIONS**

**Objective.** Microbiocenosis of 72 HIV-infected children and 45 healthy children were studied.
**Aim.** The purpose of the research is to study Candida's biological properties received from HIV-infected children's intestinal contents.
**Methods.** The allocation and identification of microorganisms were performed by conventional methods.Candida's virulent factors and sensitivity to antimycotics were studied.
**Results.** The prevalence of bacteria-fungi associations and their etiological structure in comparative groups were determined. In symbiotic associations Candida highly expressed, virulent factors had a lower sensitivity to antimycotics.
**Field.** Medical Microbiology.
**Conclusions.** The received data reveal pathogenetic bases of the development of the HIV-infected children's endogenous infections.

***Key words:*** *microbiocenosis; candidiasis; associations; biological properties; antimycotics.*

Несмотря на наличие определенных достижений в противодействии эпидемии в РФ, эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в стране остается достаточно сложной, число ВИЧ-инфицированных граждан на 31.12.2013 г. составило 850000 граждан, в том числе 95823 детей в возрасте 18 лет. Последние 5 лет ежегодно на 10 % увеличивается количество выявленных новых случаев ВИЧ-инфекции. Средний показатель вновь зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции по России составил 43,4 на 100000 населения. Превышение среднероссийского показателя роста заболеваемости зарегистрировано в различных областях, среди которых Кемеровская область является лидером (124,4 новых случаев на 100000 населения) [1, 2].

Хотя ВИЧ является этиологическим фактором СПИДа, основная смертность и заболеваемость у пациентов с СПИД связана с оппортунистическими инфекциями (ОИ): около 80 % таких пациентов умирает от ОИ, а не от ВИЧ. Среди наиболее часто встречаемых инфекций у пациентов с ВИЧ-инфекцией ли-

**Корреспонденцию адресовать:**
МАРКОВСКАЯ Алина Анатольевна,
650029, Кемерово, ул. Ворошилова 22а,
ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России.
Тел.: 8 (3842) 73-28-71.
E-mail: micro@kemsma.ru

дирующее положение занимает слизисто-кожный кандидоз [3, 4].

Поэтому особую значимость в решении данной проблемы приобретает изучение механизмов развития эндогенных инфекций у ВИЧ-инфицированных детей, что позволит разработать новые подходы в предупреждении развития осложнений или отсрочить их наступление.

**Цель исследования** – изучение биологических свойств грибов рода Candida, выделенных из кишечного содержимого ВИЧ-инфицированных детей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучен микробиоценоз кишечника 117 детей в возрасте до 3-х лет. Из них в опытную группу вошли 72 ВИЧ-инфицированных ребенка (52 % мальчика и 48 % девочек), средний возраст которых составил 2,3 ± 0,2 года. Диагноз ВИЧ-инфекция был выставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (перинатальный контакт) и подтвержден результатами ИФА, ПЦР, иммуноблотинга. Группа сравнения включала 45 ВИЧ-негативных относительно здоровых детей (53 % мальчика и 47 % девочек) в возрасте 2,0 ± 0,2 лет.

Исследование кишечного микробиоценоза проводили с помощью количественного бактериологического метода. Для идентификации грибов рода Candida использовались микроскопический, культуральный путем посева на питательную среду № 2 ГРМ (Сабуро) и HICrome Candida Differential Agar (HiMedia) и биохимический методы. Идентификацию C. albicans проводили по ростковым трубкам, которые формируются в течение двух часов в лошадиной сыворотке. Другие виды грибов выявляли с помощью тест-системы Auxocolor по ферментативным свойствам [5]. Липолитическую и ДНКазную активность условно-патогенных бактерий и грибов исследовали методом посева на Trybuthirit Base Agar (HiMedia) и DNA Base Agar (HiMedia). Изучение гемолитической активности микроорганизмов проводили на МПА с добавлением 5 % эритроцитов человека. Чувствительность к антимикотикам (АМ) определяли диско-диффузионным методом с использованием среды Мюллер-Хинтон агар и коммерческих стандартных дисков: из группы азолов – кетоконазол (20 мкг), клотримазол (10 мкг), флюконазол (40 мкг), итраконазол (10 мкг), из группы полиенов-макролидов: амфотерицин В (40 мкг), нистатин (80 ЕД).

На начальном этапе статистической обработки полученной информации применяли программы Microsoft Office Excel 2003 (лицензионное соглашение 74017-640-0000106-57177). С использованием названной программы осуществляли формирование базы данных, включающей информацию о видовом составе и количественном уровне грибов, а также о распространенности и уровне экспрессии факторов вирулентности среди них. Данные по количественному уровню микромицетов представлены в виде M ± m, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего.

Структура бактериально-грибковых ассоциаций, частота колонизации слизистой грибами, распространенность у них факторов вирулентности и резистентности к антимикотикам представлены в виде относительных величин. Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение BXXR 006BO92218 FAN 11). Статистическая обработка информации строилась с учетом характера распределения данных, который определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Сравнение контрольных и опытных частот проводили с помощью критерия $\chi^2$. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

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

При изучении ассоциативных микросимбионтов у детей основной группы была установлена высокая распространенность бактериально-грибковых ассоциаций (66,1 ± 9,6 на 100 ВИЧ-инфицированных детей). Среди детей группы сравнения ассоциации грибов и бактерий встречались реже (28 ± 11,2 на 100 относительно здоровых детей). У ВИЧ-инфицированных детей доминировали трехкомпонентные ассоциации микробов, состоящие из Candida spp. + Staphylococcus spp. + Enterobacteriaceae, их доля составила 54,4 %. В 17,6 % случаев были выделены четырехкомпонентные ассоциации Candida spp. + Staphylococcus spp. + Enterococcus spp. + Enterobacteriaceae. Пяти и шестикомпонентные бактериально-грибковые сожительства (14,7 % и 13,3 %, соответственно) включали, помимо членов четырехкомпонентных ассоциаций, представителей рода Actinomyces spp.

**Сведения об авторах:**
МАРКОВСКАЯ Алина Анатольевна, аспирант, кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: micro@kemsma.ru

В группе сравнения доминировали двухкомпонентные ассоциативные сожительства бактерий (73,4 %), состоящие из представителей семейства Enterobacteriaceae и рода Staphylococcus. Сожительства бактерий и грибов у здоровых детей встречались в виде трехкомпонентных (Candida spp. + Staphylococcus spp. + Enterobacteriaceae, 22,2 %) и четырехкомпонентных (Candida spp. + Staphylococcus spp. + Enterococcus spp. + Enterobacteriaceae, 4,4 %) ассоциаций.

Статистический анализ позволяет говорить о наличии значимых различий между долевым содержанием ассоциативных сожительств микробов в кишечнике у ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных детей ($\chi^2 = 72,9$; df = 4; p = 0,00001). Среди грибов рода Candida, выделенных из ассоциаций у детей основной группы, 39,3 % обладали гемолитической и 71,4 % – липазной активностью. У ВИЧ-негативных детей данные микромицеты проявляли гемолитическую активность в 7,8 % случаев, а липазу продуцировали только 21,3 % штаммов. Различия в частоте экспрессии факторов вирулентности у грибов рода Candida в сравниваемых группах были статистически значимы ($\chi^2 = 5,7$; df = 1; p = 0,021).

Изучение количественного уровня условно-патогенной микрофлоры позволило установить, что содержание стафилококков в кишечнике детей с ВИЧ-инфекцией в среднем составило 3,2 ± 0,2 lg КОЕ/г, грибов рода Candida 4,1 ± 0,3 lg КОЕ/г, условно-патогенных энтеробактерий – 6,9 ± 0,2 lg КОЕ/г, актиномицетов 7,2 ± 0,6 lg КОЕ/г. У детей группы сравнения количественный уровень грибов Candida spp. в ассоциациях не отличался от такового при ВИЧ-инфекции (3,9 ± 0,4 lg КОЕ/г), тогда как в монокультурах титр данных микромицетов достигал только 2,2 ± 0,3 lg КОЕ/г. Интенсивность колонизации кишечника детей группы сравнения стафилококками и условно-патогенными энтеробактериями была ниже, чем в основной группе, и составила 3 ± 0,5 lg КОЕ/г и 5,2 ± 0,3 lg КОЕ/г, соответственно.

В результате изучения чувствительности дрожжевых грибов к антимикотикам было установлено, что Candida albicans в ассоциации с кишечной палочкой (Lac-, Hly+) и золотистым стафилококком, по сравнению с non-albicans-видами, проявляли более высокую чувствительность к нистатину (100 % и 78,5 % штаммов, соответственно) и амфотерицину В (100 % и 83,3 % штаммов). Все виды микромицетов в данных ассоциациях проявляли высокую чувствительность к клотримазолу (90-100 %). Чувствительность к флюконазолу была выше у Candida albicans в ассоциации с золотистым стафилококком (50 %), тогда как non-albicans-виды в аналогичной ассоциации в 100 % случаев проявляли резистентность к данному антимикотику. Низкая чувствительность к флюконазолу зарегистрирована у 25 % штаммов non-albicans-видов и у 18 % штаммов Candida albicans в ассоциациях E. coli Lac-, Hly+. В ассоциациях с клебсиеллой чувствительность Candida albicans к антимикотикам была выше, чем у non-albicans-видов. Так, к нистатину и клотримазолу она составила 100 %, а у non-albicans-видов – 100 % и 87,5 %, соответственно, к амфотерицину В – 88,9 % против 50 % у non-albicans-видов, к флюконазолу – 66,7 % (у non-albicans-видов – 25 %).

С целью определения степени устойчивости ведущего возбудителя кандида-ассоциированных инфекций у Candida albicans были определены резистенс-типы и удельный вес штаммов с резистентностью от 1 до 6 антимикотиков (табл.).

Полученные результаты показали, что наибольший процент в обеих группах приходится на штаммы, проявляющих резистентность к 4 антимикотикам. При этом основным резистенс-типом Candida albicans оказался R4S2, характеризующийся устойчивостью ко всем 4 азолам и сохраняющий чувствительность к полиенам-макролидам. Однако частота встречаемости данных резистенс-типов у ВИЧ-инфицированных детей составила 22 %, тогда как в группе сравнения только 6,3 % ($\chi^2 = 7,1$; df = 1; p = 0,009). Кроме того, Candida albicans, выделенные из кишечного содержимого ВИЧ-инфицированных детей, проявляли максимальную устойчивость к 6 антимикотикам, в группе сравнения – только к 5 антимикотикам.

## ВЫВОДЫ:

1. Формирование ассоциативных сожительств микроорганизмов способствует не только поддержанию определенного популяционного уровня условно-патогенных микроорганизмов, но и более высокой экспрессии факторов вирулентности и устойчивостью к антимикробным препаратам у отдельных представителей. Так, среди грибов рода Candida, выделенных из ассоциаций у детей основной группы, 39,3 % штаммов обладали гемолитической, 71,4 % липазной активностью и 7,4 %

**Таблица**
**Удельный вес штаммов Candida albicans резистентных к антимикотикам (в %)**
**Table**
**The specific gravity of Candida albicans strains resistance to antimicotics (in %)**

| Резистентность C. albicans | ВИЧ-позитивные дети | ВИЧ-негативные дети | Уровень значимости различий относительных показателей |
|---|---|---|---|
| К 6 антимикотикам | 7,4 | 0 | - |
| К 5 антимикотикам | 3,7 | 6,2 | p = 0,141 |
| К 4 антимикотикам | 37 | 37,5 | p = 0,135 |
| К 3 антимикотикам | 18,4 | 12,5 | p = 0,001 |
| К 2 антимикотикам | 7,4 | 12,5 | p = 0,001 |
| К 1 антимикотику | 15 | 6,3 | p = 0,81 |

**Information about authors:**
MARKOVSKAYA Alina Anatolyevna, postgraduate student, chair of microbiology, immunology and virology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: micro@kemsma.ru

штаммов устойчивостью ко всем изученным антимикотикам. У ВИЧ-негативных детей данные микромицеты проявляли гемолитическую активность в 7,8 % случаев, липазу продуцировали только 21,3 % штаммов, а максимальная устойчивость составила к 5 антимикотикам.

2. Для снижения риска развития эндогенных бактериально-грибковых инфекций у ВИЧ-инфицированных детей необходимо проводить своевременную коррекцию микробиоценоза кишечника, направленную на устранение ассоциативных микробных сообществ и, в первую очередь, с грибами рода Candida.
3. Для эффективной коррекции дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры, осложненных кандидозной инфекцией, необходимо проводить видовую идентификацию всех выделенных грибов рода Candida с определением их чувствительности к наиболее распространенным антимикотическим препаратам.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Ladnaya NN, Sokolova EV, Tushina OI et al. HIV-infection of the women and the children in the Russian Federation in 2013 year. In: Children and HIV: problems and perspectives: the materials of reports of a science-practical conference with international participation, Saint Petersburg. Moskow, 2014. p. 3-6. Russian (Ладная Н.Н., Соколова Е.В., Тушина О.И. [и др.] ВИЧ-инфекция у женщин и детей в Российской Федерации в 2013 г. //Дети и ВИЧ: проблемы и перспективы: материалы докл. научно-практической конференции с международным участием, г. Санкт-Петербург, 25-26 сентября 2014 г. Москва, 2014. С. 3-6).
2. Levanovich VV, Timchenko VN, Arhipova UA et al. HIV-infection at the turn of the century: guidelness for doctors of all specialties. Levanovich VV, Timchenko VN, editors. St. Petersburg: N-L Publ., 2012. 496 p. Russian (Левановичч В.В., Тимченко В.Н., Архипова Ю.А. [и др.]. ВИЧ-инфекция на рубеже веков: руководство для врачей всех специальностей /под ред. В.В. Левановичч, В.Н. Тимченко. СПб.: Издательство Н-Л., 2012. 496 с.)
3. Jorge O. Alarcon, Laura Freimanis-Hance et al. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States. AIDS Research and human retroviruses. Mary Ann Liebert, Inc. 2012; 28(3): 1226-1233.
4. Alberto Novaes Ramos Jr, Luiza Harunari Matida, Carlos Henrique Alencar, Norman Hearst et al. AIDS patient care and STDs. Mary Ann Liebert, Inc. 2011; 25(4): 176-223.
5. Elinov NP, Vasileva NV, Stepanova AA, Chilina GA. Candida. Candidosis. Laboratory diagnostics. Elinov NP editor. St. Petersburg: Costa Publ., 2010. 224 p. Russian (Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. Candida. Кандидозы. Лабораторная диагностика /под ред. з.д.н. РФ проф. Н.П. Елинова. СПб.: Коста, 2010. 224 с.).

***Статья поступила в редакцию 22.09.2015 г.***

**Гончаров А.Е.**
*Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,*
*Институт экспериментальной медицины,*
*г. Санкт-Петербург*

# ШТАММЫ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ МУТАЦИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ S. AUREUS РАЗЛИЧНЫХ SPA-СИКВЕНСТИПОВ: ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

**Предмет исследования.** 47 штаммов Staphylococcus aureus, выделенных при носительстве и клинических формах инфекции.
**Цель исследования** – установить возможную взаимосвязь между распространенностью штаммов Stahylococcus aureus различных клональных линий и степенью их мутабильности.
**Методы исследования.** В ходе исследования оценивалась частота спонтанных мутаций к рифампицину у представителей различных spa-сиквенстипов.
**Основные результаты.** В исследовании установлена более высокая частота обнаружения штаммов с гипермутабельным фенотипом среди Staphylococcus aureus, представляющих широко распространенные эпидемические spa-типы t008, t030, t037 по сравнению со штаммами неэпидемических spa-типов. Обсуждается потенциальное эпидемиологическое значение штаммов-мутаторов.
**Область применения.** Полученные результаты раскрывают один из возможных механизмов формирования эпидемических штаммов стафилококков.
**Заключение.** Широкое распространение штаммов с повышенной частотой мутаций среди эпидемических spa-типов MRSA отражает высокую степень их геномной пластичности, что должно учитываться при организации эпидемиологического надзора за ними.

***Ключевые слова:*** *Staphylococcus aureus; гипермутабельные штаммы; spa-сиквенстипирование; MRSA.*

**Goncharov AE**
*Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov,*
*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg*

**STRAINS WITH AN INCREASED FREQUENCY OF MUTATIONS IN POPULATIONS OF S. AUREUS BELONGING TO DIFFERENT SPA–TYPES: A POTENTIAL EPIDEMIOLOGICAL SIGNIFICANCE.**

**Objective.** 47 commensal and clinical strains of Staphylococcus aureus have been investigated in the study.
**Aim of the study** was to find out the possible relationship between the prevalence of different clonal lines of Stahylococcus aureus and their mutability.
**Design and methods.** The rate of spontaneous mutation to rifampicin among various spa-types have been estimated.
**Results.** High frequency of hypermutable strains isolation among Staphylococcus aureus, representing widespread epidemic spa-type t008, t030, t037, compared with non-epidemic strains has been detected in the study. The potential epidemiological significance of high mutation rate has been discussed.
**Domain of usage.** The results reveal a possible mechanism for the formation of epidemic strains of staphylococci.
**Conclusion.** Wide dissemination of the strains with an increased mutation rate among epidemic MRSA spa-types reflects a high degree of their genomic plasticity, which should be taken into account by the organization of epidemic surveillance.

***Key words:*** *Staphylococcus aureus; hypermutable strains; spa-typing; MRSA.*

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что важнейшую роль в адаптивной эволюции бактерий играют мутационные события [1]. Штаммы, имеющие повышенную частоту мутаций (мутаторы), широко распространены среди клинически и эпидемиологически значимых популяций патогенных и условно-патогенных бактерий [2]. Однако, на сегодняшний день, остается невыясненным, в какой степени мутаторные генотипы возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), ассоциированы с их эпидемическими свойствами.

**Цель настоящего исследования** – установление возможной взаимосвязи между распространенностью штаммов Stahylococcus aureus различных клональных линий и степенью их мутабильности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В предварительных исследованиях [3] нами было проведено spa-сиквенстипирование эпидемических S. aureus, циркулировавших в 2010-2014 годах в лечебно-профилактических учреждениях России и Казахстана, а также культур, выделенных от амбулаторных больных, и при обследовании практически здоровых носителей. В настоящем исследовании из числа охарактеризованных ранее изолятов случайным образом были отобраны 47 штаммов золотистого стафилококка, из которых 21 штамм метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) был отнесен к эпидемическим клональным комплексам CC8 и CC239 spa-типов t008, t030, t037, 26 штаммов различных spa-типов, не отнесенных к данным доминирующим в структуре ИСМП клональным комплексам, включая штаммы, обусловившие развитие нозокомиальных и амбулаторных гнойно-септических инфекций, и штаммы, выделенные при обследовании практически здоровых носителей (табл. 1).

Для определения частот мутаций, приводящих к развитию антибиотикорезистентности у Staphylococcus aureus, была использована методика, предложенная Prunier A.L. et al. [4].

Методика заключалась в высеве $\approx 10^7$-$10^8$ бактериальных клеток на агар Мюллера-Хинтон, содержащий рифампицин в концентрации 100 mg/mL. Спустя 48 часов инкубации при 37°C подсчитывалось число выросших колоний, рассчитывалась частота мутаций, исходя из общего количества жизнеспособных бактерий в посевной дозе. Для каждого штамма опыт повторялся трижды, в качестве частоты мутаций использовалось среднее значение для трех опытов.

Согласно предложенным Prunier A.L. et al. [4] критериям, частота мутаций от $10^{-6}$ и выше оценивалась как умеренная, $10^{-5}$ – как повышенная, $10^{-4}$ – как очень высокая. Штаммы с повышенной и очень высокой частотой мутации классифицировались как гипермутаторы.

Статистическую значимость частотных различий оценивали с использованием двустороннего точного

**Корреспонденцию адресовать:**
ГОНЧАРОВ Артемий Евгеньевич,
191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41,
ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России.
Тел./факс (812)5442294.
E-mail: phage1@yandex.ru

**Сведения об авторах:**
ГОНЧАРОВ Артемий Евгеньевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; зав. лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов, ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: phage1@yandex.ru

**Information about authors:**
GONCHAROV Artemy Evgenyevich, candidate of medical sciences, docent, department of epidemiology, parasitology and disinfectology, Medical University n.a. I.I. Mechnikov; head of the laboratory of functional genomics and proteomics of microorganisms, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia. E-mail: phage1@yandex.ru

**Таблица 1**
**Состав рабочей коллекции штаммов золотистого стафилококка, использованных в настоящем исследовании**
**Table 1**
**S. aureus strains used in the study**

| Географический регион | Место выделения | Spa-тип | Характеристика изолятов | Количество штаммов |
|---|---|---|---|---|
| Санкт-Петербург | Стационар 1 (ожоговой травмы) | t037 | MRSA | 5 |
| | | t008 | MRSA | 7 |
| | | t932 | MRSA | 1 |
| | | t11805 | MRSA | 1 |
| | Стационар 2 (травматологический) | t632 | MRSA | 1 |
| | | t041 | MRSA | 1 |
| | | t008 | MRSA | 1 |
| | Центр амбулаторной хирургии | t435 | MRSA | 3 |
| Москва | Нейрохирургический стационар | t030 | MRSA | 8 |
| Анадырь, Чукотский АО | Практически здоровые лица-носители | различные spa-типы (t521, t502, t425, t2802) | MSSA | 19 |
| Всего: | | | | 47 |

критерия Фишера с использованием свободно распространяемой компьютерной программы WinPepi v. 10 [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования было установлено, что частоты мутаций устойчивости к рифампицину у исследуемых изолятов S. aureus находятся в диапозоне от $10^{-4}$ до $10^{-6}$. Учитывая, что штаммы spa-типов t008, t030, t037 относят к филогенетически родственным клональным комплексам CC8 и CC239, обладающим рядом сходных генотипических характеристик, включая наличие гомологичных генов системы рестрикции-модификации [6], при анализе мы посчитали возможным объединить результаты, полученные в отношении штаммов этих spa-типов.

Распределение штаммов золотистого стафилококка представителей различных spa-типов в зависимости от частоты мутаций получилось следующим: среди штаммов представителей spa-типов t008, t030, t037 выявлено преобладание гипермутаторов (52,3 %), у трети этих штаммов (33,3 %) была выявлена очень высокая частота мутаций, не встречающаяся у диких генотипов, в то же время из 26 штаммов других генотипов 21 (80,7 %) обладают умеренной мутабильностью и только 5 штаммов (19,2 %) – повышенной (табл. 2).

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что среди представителей широко распространенных эпидемических spa-типов t008, t030, t037 частота выявления штаммов с гипермутабельным фенотипом выше, чем у неэпидемических штаммов, и составляет 52,3 % против 19,2 % (различия являются статистически значимыми, p = 0,011). У трети штаммов, относящимся к наиболее распространенным в российских стационарах клональным комплексам CC8 и CC239 (33,3 %), была установлена очень высокая частота мутаций, не встречающаяся у других генотипов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая полученные результаты необходимо отметить, что мутаторный фенотип у бактерий, в частности стафилококков, связан с различными нарушениями в системе репарации ошибок репликации (mismatch repair system, MMR) за счет точковых мутаций или протяженных делеций в генах mutS или mutL [7]. Известно, что штаммы бактерий, имеющие дефекты в MMR-системе, помимо повышенной частоты спонтанных мутаций, характеризуются также большой способностью к рекомбинациям и горизонтальному переносу генов [8, 9]. Таким образом, широкое распространение штаммов с повышенной частотой мутаций среди эпидемических MRSA отражает, по-видимому, высокую степень геномной пластичности эпидемических генотипов.

**Таблица 2**
**Распределение штаммов S. aureus с различной частотой мутаций к рифампицину среди представителей различных spa–типов**
**Table 2**
**The distribution of strains with different rate of mutation to rifampin among various spa–types of S. aureus**

| Характеристика spa-типов штаммов | Всего штаммов | Частота мутаций | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Очень высокая ($10^{-4}$) | | Повышенная ($10^{-5}$) | | Умеренная ($10^{-6}$) | |
| | | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| Эпидемические spa-типы t008, t030, t037 | 21 | 7 | 33,3 | 4 | 19,0 | 10 | 47,6 |
| Неэпидемические spa-типы | 26 | 0 | 0 | 5 | 19,2 | 21 | 80,7 |

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Taddei F, Radman M, Maynard-Smith J, Toupance B, Gouyon PH, Godelle B. Role of mutator alleles in adaptive evolution. Nature. 1997 Jun 12; 387(6634): 700-702.

2. Li B, Tsui HC, LeClerc JE, Dey M, Winkler ME, Cebula TA. Molecular analysis of mut S expression and mutation in natural isolates of pathogenic Escherichia coli. Microbiology. 2003 May; 149(Pt 5): 1323-1331.
3. Goncharov AE, Zueva LP, Suvorov AN, Glazovskaya LS, Brusina EB, Azizov IS, Lavrinenko AV, Suborova TN, Sofronova ON, Ushkareva OA, Yadrikhinskaya VK. Leading epidemiologically important clones of Staphylococcus aureus circulating in geographically remote regions of Eurasia. Medical almanac. 2014. № 4(34). S. 27-30. Russian (Гончаров А.Е., Зуева Л.П., Суворов А.Н., Глазовская Л.С., Брусина Е.Б., Азизов И.С., Лавриненко А.В., Суборова Т.Н., Софронова О.Н., Ушкарева О.А., Ядрихинская В.К. Ведущие эпидемиологически значимые клоны золотистого стафилококка, циркулирующие в географически удаленных регионах Евразии //Медицинский альманах. 2014. № 4(34). С. 27-30.).
4. Prunier AL, Malbruny B, Laurans MJ, Brouard JF, Duhamel and R. Leclercq. High rate of macrolide resistance in Staphylococcus aureus strains from patients with cystic fibrosis reveals high proportions of hypermutable strains. J. Infect. Dis. 2003; 187: 1709-1710.
5. Abramson JH. WINPEPI (PEPI-for-Windows): computer programs for epidemiologists. Epidemiol Perspect Innov. 2004 Dec 17; 1(1): 6.
6. Lindsay JA, Sung JM. The RM test for determining methicillin-resistant Staphylococcus aureus lineages. Methods Mol Biol. 2010; 642: 3-11.
7. Hsieh P. Molecular mechanisms of DNA mismatch repair. Mutat. Res. 2001; 486: 71-87.
8. Rayssiguier C, Thaler DS, Radman M. The barrier to recombination between Escherichia coli and Salmonella typhimurium is disrupted in mismatch-repair mutants. Nature. 1989 Nov 23; 342(6248): 396-401.
9. Cox EC. Recombination, mutation and the origin of species. Bioessays. 1995 Sep; 17(9): 747-749.

***Статья поступила в редакцию 12.10.2015 г.***

**Захарова Ю.В., Леванова Л.А.**
*Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово*

# СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ

**Предмет исследования.** В работе использованы 378 штаммов, изолированных из кишечника 75 ВИЧ-инфицированных детей.
**Цель исследования** – изучение состояния микробиоценоза кишечника у ВИЧ-инфицированных детей.
**Методы исследования.** Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами. Были изучены факторы адгезии, колонизации и антагонизма доминантной микрофлоры и характер взаимодействия между доминантными и ассоциативными микросимбионтами.
**Основные результаты.** Показано, что при ВИЧ-инфекции снижение интенсивности колонизации слизистой кишечника бифидобактериями и лактобациллами обусловлено низкой адгезивной активностью микроорганизмов. Условно-патогенные бактерии формируют ассоциации с грибами рода Candida и проявляют антагонизм по отношению к доминантной микрофлоре.
**Область их применения.** Медицинская микробиология.
**Выводы.** Полученные данные раскрывают механизмы нарушений колонизационной резистентности слизистой кишечника у ВИЧ-инфицированных детей.

***Ключевые слова:*** *микробиоценоз; биологические свойства; ВИЧ-инфекция.*

**Zakharova J.V., Levanova L.A.**
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*

**HIV–INFECTED CHILDREN'S INTESTINE MICROBIOCENOSIS CONDITION**

**Objective.** 378 strains isolated from intestine of 75 HIV-infection children were used for the study.
**Aim** – researching of HIV-infected children's intestine microbiocenosis condition.
**Methods.** Isolation and identification of microorganisms were performed by conventional methods. Factors of adhesion, colonization and antagonism of the dominant microflora and the nature of the interaction between dominant and associative microsymbionts have explored.
**Results.** It is shown that in HIV infection the reduction in the intensity of colonization of the mucosa of the intestine with Bifidobacteria and Lactobacilli due to low adhesive activity of microorganisms. Opportunistic bacteria form associations with fungi of the genus Candida, and show antagonism towards the dominant microflora.
**Field.** Medical Microbiology.
**Conclusions.** Obtained data reveal mechanisms of disorders of colonization resistance of the intestinal mucosa in HIV-infected children.

***Key words:*** *microbiocenosis; biological properties; HIV-infection.*

Важнейшей функцией нормальной микрофлоры является ее участие в формировании колонизационной резистентности, что предотвращает заселение и избыточное размножение на слизистых оболочках патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. При этом поддержание стабильного микроэкологического состояния является особенно актуальным для ВИЧ-инфицированных паци-

ентов, так как вторичные бактериальные и грибковые инфекции, вызванные условно-патогенной микрофлорой, нередко являются причиной смертельных исходов наряду с туберкулезом и протозойными инфекциями [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 оппортунистических инфекций или поиске возможностей для их отсроченного наступления [2].

Относительно недавно была выдвинута новая теория развития оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных людей, согласно которой основным фактором, обуславливающим вторичные бактериально-грибковые заболевания, является нарушение нормальной микрофлоры – естественной защиты против микробов-оппортунистов [3-5]. Симбиотическая микрофлора у таких пациентов страдает из-за длительного использования антибиотиков широкого спектра, противопаразитарных препаратов и, возможно, препаратов с антиретровирусной активностью. Кроме того, положительный тест на ВИЧ приводит к тяжелому устойчивому психологическому стрессу у взрослого пациента, а у детей стрессовые ситуации связаны с пребыванием в стационарах, что также вносит свой вклад в развитие микроэкологических нарушений у данной категории пациентов. Прогрессирование CD4-лимфоцитопении и первые признаки бактериально-грибковых инфекций, в свою очередь, побуждают врача усилить терапию антибиотиками и противовирусными препаратами. Это приводит к дальнейшему нарушению нормальной микрофлоры и возникает порочный круг [5].

Многие работы демонстрируют, что микроэкологические нарушения кишечника, вне зависимости от причины, которые вызвали их, имеют сходный характер, т.е. обычно отмечают снижение числа доминантных микросимбионтов и увеличение интенсивности колонизации слизистой условно-патогенными бактериями и грибами. Однако также известно, что в процессе формирования ассоциаций микроорганизмы меняют свои биологические свойства [4]. При этом исследования чаще всего демонстрируют изменения вирулентности условно-патогенных микросимбионтов, а данные по функциональным характеристикам доминантной микрофлоры у ВИЧ-инфицированных пациентов немногочисленны и практически отсутствуют. У них плохо изучены видовая структура бифидо- и лактофлоры, их способность к адгезии, колонизации в условиях иммунодефицита, антагонистические свойства по отношению к условно-патогенным микроорганизмам, что не позволяет говорить о механизмах развития микроэкологических нарушений и оппортунистических бактериальных и грибковых инфекций при ВИЧ-инфекции. Также знание биологических свойств доминантной микрофлоры необходимо для определения конкретных точек приложения для средств и методов коррекции микробиоценоза у ВИЧ-позитивных пациентов.

**Корреспонденцию адресовать:**
ЛЕВАНОВА Людмила Александровна,
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а,
ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России.
Тел.: 8 (3842) 73-28-71.
E-mail: micro@kemsma.ru

**Цель исследования** – анализ состояния микробиоценоза кишечника у ВИЧ-инфицированных детей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучен микробиоценоз кишечника 120 детей. В опытную группу вошли 75 детей с ВИЧ-инфекцией IIв (36 %) и IIIа (64 %) стадий, средний возраст детей составил 2,3 ± 0,2 года. Диагноз ВИЧ-инфекция был выставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (перинатальный контакт) и подтвержден результатами ИФА, ПЦР, иммуноблотинга. 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.

Исследование кишечного микробиоценоза проводили с помощью количественного бактериологического метода. Для выделения облигатно-анаэробных бактерий применяли анаэростаты и газогенерирующие пакеты. Идентификацию бактерий и грибов осуществляли с использованием коммерческих тест систем ANAERO-TEST 23, ПБДС, STREPTO-TEST 16, AUXOCOLOR, СИБ для энтеробактерий набор № 2. Проведено 886 опытов по изучению биологических свойств участников симбиотических ассоциаций.

Адгезивные свойства микроорганизмов изучали согласно методике В.И. Брилиса (1986). Для этого культуры выращивали в течение 24 часов на скошенном мясо-пептонном агаре с учетом типа дыхания. Взвесь микроорганизмов готовили на стерильном изотоническом растворе хлорида натрия в концентрации $10^9$ КОЕ/мл. Клеточным субстратом служили формализированные эритроциты человека 0(I) группы Rh(+), густотой 100 млн/мл. Эритроциты и взвесь микроорганизмов в равных объемах по 50 мкл соединяли в пробирках и инкубировали при 37°С в течение 1 часа, регулярно встряхивая смесь. После этого готовили мазок, высушивали, фиксировали 96 % спиртом 15 мин и окрашивали по Романовскому-Гимза. Изучение адгезии проводили под световым микроскопом, подсчет вели на 50 эритроцитах. Оценку результатов опыта вели по индексу адгезивности микроорганизма (ИАМ), который характеризует среднее количество микробных клеток на одном участвующем в адгезивном процессе эритроците. Микроорганизмы считали неадгезивными при ИАМ ≤ 1,75; низкоадгезивными – от 1,76 до 2,5; среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивными – при ИАМ ≥ 4,0.

Активность кислотообразования бифидобактерий определяли титрометрическим методом. С этой целью

к суточным культурам бифидобактерий, выращенных на среде Блаурокка в объеме 5 мл, добавляли по 2 капли индикатора фенолфталеина и титровали 0,1н NaOH. Количество щелочи, пошедшей на титрование, соответствует количеству образуемой кислоты в 5 мл культуральной жидкости. Окончательный результат выражали в градусах Тернера: T° = A × K × 20, где A – количество 0,1н щелочи, пошедшее на титрование 5 мл исследуемой жидкости, K – поправка к титру, определяемая при титровании 0,1н раствора щелочи 0,1н янтарной кислотой, T° – величина, выражающая количество 0,1н щелочи, пошедшей на титрование 100 мл исследуемого образца.

Антагонистическую активность микроорганизмов определяли методом перпендикулярных штрихов на плотной питательной среде. На чашку с плотной питательной средой петлей 2 мм наносили полоску культуры бактерий и инкубировали 24-48 часов с учетом типа дыхания. Далее к выросшей культуре подсевали участников ассоциаций, предварительно выращенных на скошенном мясо-пептонном агаре в течение 18 часов. Посев производили петлей диаметром 1 мм в направлении от зоны роста изучаемых бактерий, не касаясь ее и перпендикулярно ей. Чашки инкубировали при температуре 37°C 24 часа. Учет результатов вели по величине зоны отсутствия роста микроба-ассоцианта в мм.

На начальном этапе статистической обработки полученной информации применяли программы Microsoft Office Excel 2003 (лицензионное соглашение 74017-640-0000106-57177). С использованием названной программы осуществляли формирование базы данных, включающей информацию о видовом составе и количественном уровне кишечных микросимбионтов, их адгезивных характеристиках, характере взаимоотношений, а также о распространенности и уровне экспрессии факторов вирулентности среди условно-патогенных бактерий. Количественные признаки представлены в виде M ± m, где M – среднее арифметическое, m – ошибка средней величины.

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica (версия 6.1 лицензионное соглашение BXXR 006BO92218 FAN 11). Характер распределения переменных величин в рассматриваемой совокупности определяли с помощью построения гистограмм. В связи с тем, что характер распределения данных не соответствовал нормальному, для статистической обработки применяли непараметрические критерии оценки статистической значимости. Для определения значимости различий между двумя несопряженными совокупностями использовали критерий Манна-Уитни и критерий $\chi^2$. Для анализа связей между колонизационным уровнем бактерий и их адгезивной активностью применяли коэффициент корреляции рангов Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

К числу доминантной микрофлоры кишечника относятся бифидобактерии и лактобациллы, основной функцией которых является формирование колонизационной резистентности (КР). Одним из механизмов КР является адгезивная активность доминантной микрофлоры, обуславливающая способность колонизировать биотоп и вступать в антагонизм с ассоциативными микросимбионтами. Проведенные исследования показали наличие статистически значимых различий между средними значениями индекса адгезии микроорганизмов (ИАМ) у доминантных и ассоциативных микросимбионтов, выделенных от ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных детей, кроме фекальных энтерококков (табл.).

Среди бифидобактерий, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией, преобладали штаммы со средней или низкой адгезивной активностью, доля которых в структуре бифидофлоры составила 81,2 %. В группе сравнения таких культур было только 44,4 %, т.е. 55,6 % проявляли высокую способность к адгезии. Различия бифидофлоры по структуре адгезивной активности в сравниваемых группах были статистически значимы ($\chi^2 = 7,1$; df = 2; p = 0,04). Установлено наличие прямой корреляционной связи между показателем специфической адгезии и интенсивностью колонизации слизистой кишечника бифидобактериями (r = 0,52; p = 0,001). Чем выше показатель специфической адгезии, тем более высокого количественного уровня достигает бифидофлора. Так как бифидобактерии у детей с ВИЧ-инфекций были отнесены к средне- и низкоадгезивным культурам, интенсивность колонизации кишечника бифидофлорой у детей с ВИЧ-инфекцией составила 7,2 ± 0,4 lg КОЕ/г, у

**Таблица**
**Средние значения индексов адгезии (M ± m) микроорганизмов у ВИЧ-позитивных и ВИЧ-негативных детей**
**Table**
**The average of the microorganisms' adhesive indexes (M ± m) of the HIV-positive and HIV-negative children**

| Микроорганизмы | ВИЧ-позитивные дети | ВИЧ-негативные дети | Уровень значимости различий (p) |
|---|---|---|---|
| Bifidobacterium spp. | 2,61 ± 0,3 | 4,12 ± 0,2 | 0,0009 |
| Lactobacillus spp. | 2,92 ± 0,2 | 4,50 ± 0,3 | 0,02 |
| E. coli lac+ | 2,44 ± 0,2 | 4,23 ± 0,2 | 0,0008 |
| Enterococcus spp. | 2,98 ± 0,2 | 3,12 ± 0,3 | 0,12 |
| Staphylococcus spp. | 3,74 ± 0,2 | 2,11 ± 0,4 | 0,001 |
| Klebsiella spp. | 3,51 ± 0,6 | 1,90 ± 0,2 | 0,0009 |

**Сведения об авторах:**
ЗАХАРОВА Юлия Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент, кафедра микробиологии, иммунологии и вирусологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: yvz@bk.ru
ЛЕВАНОВА Людмила Александровна, доктор медицинских наук, зав. кафедрой микробиологии, иммунологии и вирусологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: micro@kemsma.ru

детей из группы сравнения содержание бифидофлоры, обладающей высокими адгезивными свойствами, было статистически выше – 9,2 ± 0,2 lg КОЕ/г (p = 0,005).

На формирование определенного типа микробиоценоза оказывают влияние и химические факторы антагонизма доминантной микрофлоры. При изучении способности бифидобактерий к продукции кислот, образующихся при ферментации углеводов, у ВИЧ-инфицированных детей установлена низкая кислотообразующая активность бифидофлоры. Титруемая кислотность в среднем составила 74,14 ± 5,8°Т, тогда как в группе сравнения этот показатель достигал 111,21 ± 6,7°Т (p = 0,008). Также отмечали статистически значимую разницу в структуре кислотообразующих штаммов ($\chi^2$ = 18,3; df = 2; p = 0,0001). Большинство штаммов бифидобактерий от детей с ВИЧ-инфекцией проявляли среднюю (53,7 %) или низкую (31,5 %) способность к кислотообразованию. От ВИЧ-негативных детей штаммы характеризовались средней (59,52 %) и высокой (40,47 %) кислотообразующей способностью.

Однако, несмотря на более низкий уровень продукции органических кислот бифидобактериями от детей с ВИЧ-инфекцией, распространенность антагонизма не отличалась от аналогичного показателя в группе сравнения и составила 72,7 ± 2,7 против 84,8 ± 3,1 на 100 культур, соответственно (p = 0,08). При этом бифидофлора у детей с ВИЧ-инфекцией чаще проявляла антагонизм не к условно-патогенным бактериям, а к факультативно-анаэробной индигенной микрофлоре: к Escherichia coli lac+ (38,2 %) и Enterococcus faecalis (24,6 %). Это свидетельствует об ослаблении регулирующей функции бифидофлоры у ВИЧ-инфицированных детей на всех представителей кишечного микробиоценоза и сохранении ее только в отношении индигенных представителей. У детей из группы сравнения антагонистические взаимоотношения формировались, прежде всего, с условно-патогенными представителями микробиоценоза: Klebsiella spp. (42,3 %) и Staphylococcus spp. (36,4 %). Различия в структуре антагонизма бифидофлоры к представителям кишечного микробиоценоза в сравниваемых группах были статистически значимы ($\chi^2$ = 17,12; df = 2; p = 0,03).

Изучение адгезивной активности позволило установить, что среди лактобацилл, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией, 51,5 % штаммов были отнесены к микроорганизмам со средней адгезивной активностью, а 44 % – к низкоадгезивным, на высокоадгезивные культуры приходилось не более 4,5 %. В группе сравнения среди лактофлоры преобладали высокоадгезивные бактерии (47,6 %), на долю среднеадгезивных штаммов приходилось 45,2 %, а к низкоадгезивным были отнесены только 7,2 % культур. Различия структуры лактобацилл по адгезивной активности были статистически значимы ($\chi^2$ = 34,3; df = 2; p = 0,0007). Адгезивные характеристики бактерий определяют не только способность бифидобактерий и лактофлоры защищать слизистую кишечника от колонизации нетипичной микрофлорой, но и популяционный уровень данных микросимбионтов. Установлена прямая корреляционная связь между ИАМ и интенсивностью колонизации слизистой кишечника бифидобактериями и лактобациллами (r = 0,52 и 0,56; p = 0,001 и 0,021). Поэтому преобладание среднеадгезивной активности у данных анаэробов обуславливает у ВИЧ-инфицированных детей низкий популяционный уровень как бифидобактерий (7,5 ± 0,4 lg КОЕ/г), так и лактобацилл (6,3 ± 0,3 lg КОЕ/г).

У детей из группы сравнения содержание бифидо- и лактофлоры было статистически выше – 8,9 ± 0,2 lg КОЕ/г (p = 0,0075) и 8,1 ± 0,4 lg КОЕ/г (p = 0,0006), соответственно. Лактобациллы, как у детей основной группы, так и у детей группы сравнения, обладали выраженной способностью к антагонизму, так как распространенность этого признака достигала 88 % и 91 %, соответственно ($\chi^2$ = 2,71; df = 2; p = 0,005). Способность к кислотообразованию была выше у лактофлоры здоровых детей и составила 97,6 ± 5,7°Т, против 86,7 ± 6,2°Т у детей с ВИЧ-инфекцией, однако различия статистически не значимы (p = 0,06). При этом установлено, что лактобациллы у ВИЧ-инфицированных детей проявляли антагонизм к условно-патогенным микробам-ассоциантам: Candida albicans в 21,2 % случаев, Staphylococcus spp. в 19,6 %, Klebsiella spp. в 16,7 %. В группе сравнения регистрировали антагонизм лактобацилл к тем же представителям микробиоценоза и практически с той же частотой, которая составила 31 %, 23,8 % и 26,1 %, соответственно, ($\chi^2$ = 2,79; df = 2; p = 0,21). Таким образом, у детей с ВИЧ-инфекцией лактобациллы, несмотря на низкий популяционный уровень, являются функционально полноценными в межмикробных взаимоотношениях, что позволяет им регулировать число условно-патогенных бактерий в кишечном биотопе. У относительно здоровых детей этот процесс осуществляют и бифидобактерии, и лактобациллы.

Дефицит анаэробной части доминантных микросимбионтов у детей с ВИЧ-инфекцией компенсируется более высоким количественным уровнем типичных кишечных палочек (8,3 ± 0,2 lg КОЕ/г) по сравнению с детьми группы сравнения (7,8 ± 0,2 lg КОЕ/г), хотя разница статистически не достоверна (p = 0,07). Однако в популяции E. coli lac+, выделенных от детей основной группы, преобладали низкоадгезивные штаммы, доля которых составила 52,9 %. Средней адгезивной активностью обладали 32,4 % штаммов, на высокоадгезивные эшерихии приходилось толь-

**Information about authors:**

ZAKHAROVA Yulia Viktorovna, candidate of medical sciences, docent, chair of microbiology, immunology and virology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: yvz@bk.ru

LEVANOVA Lyudmila Aleksandrovna, doctor of medical sciences, professor, head of the chair of microbiology, immunology and virology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: micro@kemsma.ru

ко 14,7 % культур. У детей группы сравнения 37,8 % штаммов типичных кишечных палочек были отнесены к высокоадгезивным, 44,4 % – к среднеадгезивным, низкоадгезивных культур было 17,8 %. Различия по адгезивной активности типичных кишечных палочек в сравниваемых группах были статистически значимы ($\chi^2 = 15,7$; df = 2; p = 0,0008). Доля штаммов с антагонистической активностью к условно-патогенной микрофлоре среди эшерихий, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией, составила только 7,4 %, от здоровых – 26,7 % ($\chi^2 = 4,08$; df = 1; p = 0,023). Указанные характеристики микрофлоры при ВИЧ-инфекции не позволяют типичным кишечным палочкам адекватно обеспечивать колонизационную резистентность, даже если их количественный уровень достаточно высок.

Изучение количественного уровня условно-патогенной микрофлоры позволило установить, что содержание стафилококков в кишечнике детей с ВИЧ-инфекцией в среднем составило 3,2 ± 0,2 lg КОЕ/г, грибов рода Candida – 4,1 ± 0,3 lg КОЕ/г, условно-патогенных энтеробактерий – 6,9 ± 0,2 lg КОЕ/г, актиномицетов – 7,2 ± 0,6 lg КОЕ/г. У детей группы сравнения количественный уровень грибов Candida spp. в ассоциациях не отличался от такового при ВИЧ-инфекции (3,9 ± 0,4 lg КОЕ/г; p = 0,07), тогда как в монокультурах титр данных микромицетов достигал только 2,2 ± 0,3 lg КОЕ/г. Интенсивность колонизации кишечника детей группы сравнения стафилококками и условно-патогенными энтеробактериями была ниже, чем в основной группе, и составила 3 ± 0,5 lg КОЕ/г (p = 0,057) и 5,2 ± 0,3 lg КОЕ/г (p = 0,0005).

При изучении ассоциативных микросимбионтов было установлено, что микроорганизмы, входящие в состав ассоциаций, как у ВИЧ-инфицированных детей, так и у относительно здоровых детей, не проявляют друг к другу антагонистических взаимоотношений. Более того, они формируют сателлитный симбиоз, так как дрожжевые грибы рода Candida потенцируют рост клебсиелл. Серия опытов по совместному культивированию K. pneumoniae и C. albicans показала, что в течение 2 часов количество клебсиелл после инкубирования с грибами достигает 8 ± 0,3 lg КОЕ/г, тогда как в контроле (монокультура Klebsiella spp.) для достижения такого количественного уровня требуется 6 часов. При этом количественный уровень самих грибов в ассоциациях с клебсиеллами достигал 2 ± 0,2 lg КОЕ/г только через 4 часа и затем не изменялся в течение всего времени сокультивирования.

Бактерии, входящие в состав минорных ассоциаций ВИЧ-инфицированных детей, проявляли антагонизм по отношению к доминантной микрофлоре, распространенность которого составила 21,6 ± 1,7 на 100 культур. В антагонистические взаимоотношения с типичной кишечной палочкой вступали 18,2 % гемолизинпродуцирующих эшерихий, а с фекальными энтерококками – 22,2 % стафилококков. Распространенность антагонизма среди ассоциативных микросимбионтов по отношению к доминантным бактериям у детей группы сравнения составила только 8,9 ± 1,1 на 100 культур, что было статистически ниже, чем в основной группе (p = 0,00061).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе механизма нарушения колонизационной резистентности кишечника у ВИЧ-инфицированных детей лежит снижение способности бифидобактерий и лактобацилл к адгезии и колонизации данного биотопа. Нарушение продукции органических кислот доминантными микросимбионтами способствует тому, что условно-патогенные бактерии достигают высокого популяционного уровня и формируют ассоциации друг с другом. В ассоциациях они проявляют антагонизм по отношению к нормальной микрофлоре и формируют сателлитный симбиоз с грибами рода Candida. Полученные данные о механизмах развития микроэкологических нарушений при ВИЧ-инфекции могут быть основой для разработки способов и средств коррекции кишечного микробиоценоза у ВИЧ-инфицированных пациентов и предупреждения развития у них вторичных бактериально-грибковых инфекций.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Alarcon JO, Freimanis-Hance L, Krauss M, Reyes MF et al. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States. AIDS Research and human retroviruses. Mary Ann Liebert, Inc. 2012; 28(3): 1226-1233.
2. Levanovich VV, Timchenko VN, Arhipova UA et al. HIV-infection at the turn of the century: guidelness for doctors of all specialties. Levanovich VV, Timchenko VN, editors. St. Petersburg: N-L Publ., 2012. 496 p. Russian (Левановичч В.В., Тимченко В.Н., Архипова Ю.А. и др. ВИЧ-инфекция на рубеже веков: руководство для врачей всех специальностей /под ред. В.В. Левановичч, В.Н. Тимченко. СПб.: Издательство Н-Л., 2012. 496 с.)
3. Alberto Novaes Ramos Jr, Luiza Harunari Matida, Carlos Henrique Alencar, Norman Hearst et al. AIDS patient care and STDs. Mary Ann Liebert, Inc . 2011; 25(4): 176-223.
4. Tony Lance. Intestinal dysbiosis – a major mechanism in AIDS. HEAL London, 2008; Available at: http://www.heallondon.org/index.php/health-and-well-being/74-intestinal-dysbiolsis-a-major-mechanism-in-aids (accessed June 02, 2013).
5. Koliadin V. Destruction of normal resident microflora as the main cause of AIDS. Continuum, Aug. 1996; Available at: http://www.virusmyth.com/aids/hiv/vkmicro.htm (accessed Feb. 15, 2008).

***Статья поступила в редакцию 26.09.2015 г.***

**Ефимова А.Р., Дроздова О.М., Карань Л.С.**
*Кемеровская государственная медицинская академия,*
*Центр гигиены и эпидемиологии в Кемеровской области,*
*г. Кемерово,*
*Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора,*
*г. Москва*

# МНОГОЛЕТНЯЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Изучена многолетняя динамика заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) в Кемеровской области с 1952 по 2014 годы, проведено генотипирование 11 проб РНК вируса клещевого энцефалита, изолированных из клещей I. persulcatus, собранных в 2014 году.
**Цель исследования** – установление эпидемиологических закономерностей распространения заболеваемости КЭ и генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита.
**Методы исследования.** Использованы метод ретроспективного эпидемиологического анализа, статистические методы, иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция.
**Результаты.** Выявлены региональные особенности распространения заболеваемости, определена цикличность КЭ. Установлена эпидемиологическая эффективность акарицидных обработок эндемичных территорий и массовой вакцинопрофилактики.
**Область их применения.** Практическое здравоохранение.
**Выводы.** Основными группами высокого риска на протяжении всего периода изучения были дети школьного возраста (7-16 лет) и сельское население. В последние десятилетия на территории области циркулирует вирус клещевого энцефалита только сибирского подтипа с высоким разнообразием топовариантов.

***Ключевые слова:*** *клещевой энцефалит; многолетняя динамика заболеваемости; группы риска; вирус клещевого энцефалита; генетическое разнообразие.*

**Efimova A.R., Drozdova O.M., Karan L.S.**
*Kemerovo State Medical Academy,*
*Center of Hygiene and Epidemiology in Kemerovo region, Kemerovo,*
*Central Research Institute of Epidemiology, Moscow*

**LONG-TERM INCIDENCE OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND GENETIC DIVERSITY OF THE CAUSATIVE AGENT IN THE KEMEROVO REGION**

The study long-term dynamics of tick-borne encephalitis (TBE) incidence within the territory of Kemerovo region since 1952 to 2014 years. TBEV genotype has been determined for 11 RNA samples isolated from ticks collected in 2014.
**Objective** – establish genetic variety of TBE and regularities of it's epidemiological expansion.
**Methods.** The methods, we used, were retrospective epidemiological analysis, enzyme immunoassay (ELISA), polymerase chain reaction and different statistics.
**Results.** As a result, regional specific features and cyclic character of TBE incidence were evaluated. We also determined epidemiological efficacy of universal vaccination campaigns and acaricide treatment at highly-epidemic areas.
**Conclusions.** During our studies the main high-risk groups were school-aged children (7-16 years) and rural population. Over the last decade only Siberian subtype of TBE, which consists of many local variations, circulates within the territory of the region.

***Key words:*** *tick-borne encephalitis; long-term dynamics of disease; risk groups; tick-borne encephalitis virus; the genetic diversity.*

Кемеровская область относится к территориям, эндемичным по клещевому энцефалиту (КЭ). История его изучения насчитывает более 70 лет. Первые описания случаев КЭ относятся к 1941 году. Максимальная заболеваемость регистрировалась в 50-е годы прошлого столетия, в 60-е годы на долю Кемеровской области приходилось до 70 % всех заболеваний КЭ в Западной Сибири. Это определило организацию комплексного изучения эпидемиологических, клинических и зоолого-энтомологических закономерностей распространения инфекции с участием сотрудников специально созданных эпидемиологических отрядов НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов Академии медицинских наук (АМН) СССР, областной санитарно-эпидемиологической станции и здравоохранения Кемеровской области. В разработке специфических и неспецифических мероприятий был использован опыт борьбы с КЭ, полученный на Дальнем Востоке.

В 1960-1970-е годы основными среди неспецифических мер служили акарицидные обработки территории области, которые проводились с использованием дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) в больших масштабах с привлечением авиации. Кроме того, ис-

**Корреспонденцию адресовать:**
ЕФИМОВА Анна Роняевна,
650099, г. Кемерово, пр. Шахтеров, д. 42, кв. 17.
Тел.: 8 (3842) 36-81-57; +7-908-945-15-86.
E-mail: annapralich1@mail.ru

пользовали методы индивидуальной защиты от нападения клещей с применением репеллентов, специальной одежды, пропагандировали правила безопасного поведения при посещении природных и антропургических очагов, создавали «культурные» ландшафты. Используемые меры определили резкое снижение численности клещей, количества покусов и заболеваемости населения.

Одновременно использовали меры специфической профилактики, которые предполагали вакцинацию групп риска и введение специфического иммуноглобулина лицам, пострадавшим от укусов клещей. Первая вакцина против КЭ была изготовлена на основе инактивированной формалином мозговой суспензии зараженных белых мышей дальневосточного штамма вируса клещевого энцефалита. Вакцина оказалась высоко реактогенной, использовалась ограниченно и вскоре была заменена другой, изготовленной на тканевой культуре со сложной и длительной схемой иммунизации, при которой полноценный иммунитет у населения формировался только через 5 лет [1].

Современные отечественные вакцины приготовлены на основе инактивированного вируса клещевого энцефалита дальневосточного подтипа, очищены от балластных примесей, характеризуются большей эффективностью и безопасностью по сравнению с применявшимися ранее [1]. Зарегистрированы единичные случаи заболеваний КЭ среди вакцинированных лиц, которые отличались доброкачественным течением [2, 3]. Зарубежные вакцины, применяемые в России, не имеют принципиальных различий в технологии получения и реактогенности, однако в качестве производственных использованы штаммы, относящиеся к европейскому подтипу, мало распространенному на территории нашей страны [1, 3]. Дискуссионным остается вопрос эффективности вакцин, изготовленных на основе разных вирусных штаммов, для профилактики КЭ в Российской Федерации.

В последние десятилетия существенно изменились социальные и экономические условия жизни населения. К их числу относятся возросшая мобильность, увеличение количества загородных мест отдыха и проживания, освоение новых территорий в границах природных очагов и т.д. Глобальные изменения климата, антропогенная трансформация ландшафтов, совершенствование профилактических и противоэпидемических мероприятий влияют на распространение КЭ [3, 4].

**Цель исследования** – проанализировать эпидемиологические закономерности распространения заболеваемости КЭ и генетическое разнообразие вируса клещевого энцефалита в Кемеровской области.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выполнено описательное ретроспективное эпидемиологическое исследование распространения КЭ в Кемеровской области. Использованы данные форм официальной отчетности Управления Роспотребнадзора по Кемеровской области за период с 1952 по 2014 гг. В материалы исследования включены 12627 карт эпидемиологического обследования очагов заболеваний КЭ за 50 лет (1961-2014 гг.) Частоту покусов и объемы проводимой экстренной иммунопрофилактики пострадавшему от нападения клещей населению оценивали при анализе более 200 тысяч обращений жителей в медицинские организации области за 1990-2014 годы.

Вирусофорность клещей изучена при исследовании 50000 особей клещей, собранных на территории области. Имаго клещей Ixodes persulcatus (I. Persulcatus) собирали с растительности на флаг в период их максимальной активности – с мая по июнь. Исследования на наличие антигена КЭ проводили в вирусологических лабораториях на базе аккредитованных испытательных центров ФБУЗ «Центра гигиены и эпидемиологии в Кемеровской области» в городах Кемерово и Новокузнецк. Клещей исследовали пулами по 10 особей методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Векто-ВКЭ-антиген».

Генетическое разнообразие вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) было изучено при генотипировании 11 проб РНК ВКЭ, изолированных из клещей I. persulcatus, собранных в 2014 году в Кемеровском, Крапивинском, Гурьевском, Ижморском, Юргинском и Топкинском районах области. Генотипирование проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с генотипспецифическими зондами и методом сравнения нуклеотидных последовательностей участка гликопротеина Е с изолятами, депонированными в базу данных NCBI. Анализ гомологии нуклеотидных последовательностей проводился в программе Mega 5.0.

Анализ динамических рядов проводили методом наименьших квадратов, исключение выскакивающих величин – с применением критерия Шовене. Коэффициент корреляции Спирмена вычислялся для уровня значимости $p = 0,05$. Доверительные интервалы интенсивных показателей рассчитывались для доверительной вероятности 95 %.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета прикладных программ Microsoft® Office Exel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Официальная регистрация КЭ в Кемеровской области началась с 1952 года. Средняя многолетняя ин-

**Сведения об авторах:**

ЕФИМОВА Анна Роняевна, врач-вирусолог, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Кемеровской области»; аспирант, кафедра эпидемиологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: annapralich1@mail.ru

ДРОЗДОВА Ольга Михайловна, доктор мед. наук, профессор, кафедра эпидемиологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

КАРАНЬ Людмила Станиславовна, науч. сотрудник, ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия.

цидентность с 1952 по 2014 годы составила 11,73 ‰ [95% ДИ = 10,55-13,02], максимальный уровень зарегистрирован в 1952 году (56,3 ‰ [95% ДИ = 54,40-58,18]), минимальный – в 1973 году (1,1 ‰ [95% ДИ = 0,75-1,58]). Установлена тенденция снижения заболеваемости Тпр. = -2,05% (рис. 1).

Для КЭ характерна цикличность в эндемичных регионах России, которая зависит от природных и климатических условий, погодных колебаний, состояния популяций прокормителей, количества клещей, объема и качества проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий и т.д. Как правило, циклы с периодическими подъемами и спадами характеризуются значительными размахами и небольшими амплитудами колебаний заболеваемости в течение каждого цикла [1, 4].

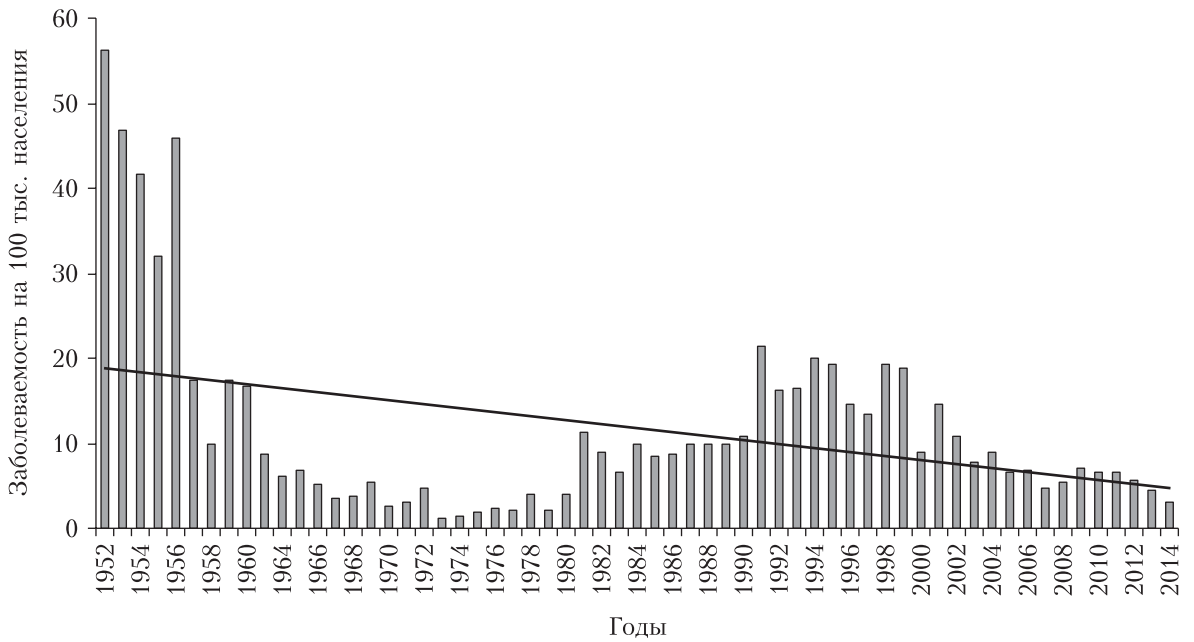
Ретроспективным анализом многолетней заболеваемости КЭ в Кемеровской области выявлено три периода, отличавшихся интенсивностью и продолжительностью.

Высокие уровни заболеваемости отмечены в первом периоде. Однако отсутствие регистрации КЭ до 1952 года не позволило установить его начало. Вероятно, 1952-1957 годы могут быть отнесены к его окончанию, и в это время заболеваемость была максимальной за весь период наблюдения (средний многолетний показатель – 40,0 ‰ [95% ДИ = 38,15-41,88]) и отличалась выраженной тенденцией к снижению (Тпр = - 18,6%). В эти годы начались акарицидные обработки отдельных территорий, и в 1957 году объем их составил 12000 гектаров. Вакцинация против КЭ проводилась в ограниченном количестве (не более 3000-7000 человек в год), и не имела решающего значения в профилактике инфекции [5].

Второй период продолжался более 30 лет, с 1958 до 1989 года, отличался комплексным подходом к профилактике КЭ и относительной стабилизацией заболеваемости на низком уровне (Тпр. = 0,1 %). По сравнению с первым периодом, инцидентность КЭ уменьшилась в 6 раз, средний многолетний показатель – 6,56 ‰ [95% ДИ = 5,65-7,56]. Вместе с тем, в этом периоде заболеваемость распределялась неравномерно. До 1981 года особое значение придавалось массированным акарицидным обработкам лесов высокоэндемичных территорий препаратом ДДТ, в том числе с использованием авиации. Всего за период с 1958 по 1980 гг. было обработано более 900 тыс. га. Максимально интенсивно леса обрабатывались с конца 50-х и до середины 60-х годов [6]. Акарицидные обработки оказали существенное влияние на уровень заболеваемости КЭ (рис. 2). Установлена высокой силы обратная корреляционная связь между заболеваемостью КЭ и объемами обработанных акарицидами территорий (R = -0,867; p = 0,05).

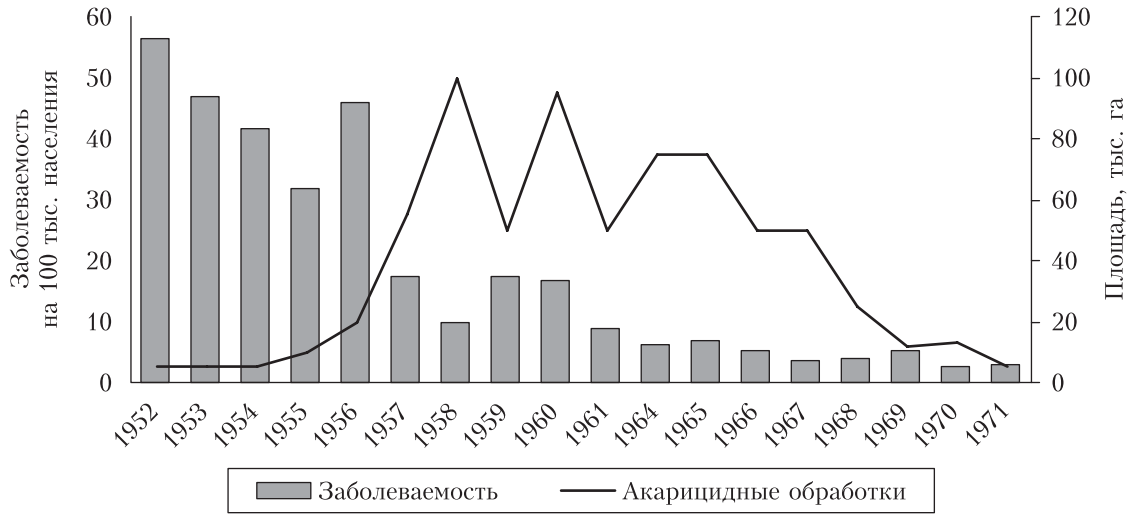
Одновременно широко применяли вакцинопрофилактику. С 60-х годов ежегодно прививали 150-250 тыс.

**Рисунок 1**
**Многолетняя динамика заболеваемости клещевым энцефалитом (КЭ) в Кемеровской области за 1952–2014 гг.**
**Figure 1**
**Long-term dynamics of the incidence of tick-borne encephalitis in the Kemerovo region for the 1952–2014**




**Information about authors:**
EFIMOVA Anna Ronyaevna, doctor virologist, Center of Hygiene and Epidemiology in Kemerovo region; postgraduate student, department of epidemiology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: annapralich1@mail.ru
DROZDOVA Olga, doctor of medical sciences, professor, department of epidemiology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia.
KARAN Lyudmila, research scientist, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia.

**Рисунок 2**
**Динамика акарицидных обработок и заболеваемости КЭ в 1952–1971 гг.**
**Figure 2**
**Dynamics of acaricide treatment and the incidence of tick-borne encephalitis in 1952–1971**




человек, включая взрослых и детей с 4-7 лет, с использованием культуральной вакцины производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. Общее количество привитых составило около 2 миллионов человек [6, 7].

Одновременное сочетание больших объемов специфической и неспецифической профилактики привело к снижению заболеваемости в 2,6 раза, с 10,0 ‰ [95% ДИ = 8,89-11,19] в 1958 году до 3,9 ‰ [95% ДИ = 3,23-4,73] в 1980 году.

В связи с официальным запретом применения ДДТ для акарицидных обработок, высокой реактогенностью вакцины против клещевого энцефалита, длительной схемой вакцинации, с 1981 года в Кемеровской области приоритет был отдан экстренной профилактике с использованием препаратов иммуноглобулина пострадавшему от нападения клещей населению. Объем ее увеличивался ежегодно. В 1981 году иммуноглобулин получили 37 % обратившихся после присасывания клещей, в 1988 г. – 98 % [7]. Для профилактики заболевания у детей применялся иммуноглобулин против ВКЭ, взрослым вводили иммуноглобулин человека нормальный с низким титром антител (1 : 20 – 1 : 40) [7]. Изменения системы профилактики сопровождались тенденцией к росту заболеваемости в конце второго периода до 9,9 ‰ [95% ДИ = 8,86-11,15] к 1989 году (Тпр. = 8,72 %).

Третий период (1990-2014 гг.) характеризовался более высоким средним многолетним показателем инцидентности (11,15 ‰ [95% ДИ = 9,99-12,40]) по сравнению со вторым. В начале изучаемого периода (1991-2000 гг.) заболеваемость росла (Тпр. = 1,28 %), что обусловлено уменьшением объемов вакцинации населения, постепенной утратой эффективности ранее проводимых акарицидных обработок и отсутствием новых альтернативных препаратов. В связи с этим, была проведена большая работа по подбору инсектоакарицидных субстанций, подходящих для борьбы с клещами в природных биотопах. В 21 веке борьба с клещами проводится препаратами, которые обладают относительно коротким остаточным действием – фосфорорганическими соединениями (ФОС) и пиретроидами [8, 9]. В лесной подстилке акарицидные средства, изготовленные на их основе, сохраняют свое действие не более 1-1,5 месяцев, уничтожают только активную часть популяции клещей и только в одном сезоне [8]. Регулярное применение современных препаратов и усовершенствованных вакцин определило тенденцию к снижению инцидентности КЭ во второй половине последнего периода (Тпр. = -6,37 %).

Одновременно в практике началось применение вакцин последнего поколения. Ежегодно в Кемеровской области прививали 17-19 % детского и около 5 % взрослого населения. За 8 лет (2007-2014 гг.) против КЭ было вакцинировано более 250 тыс. человек, что соответствует 20 % населения области. Кроме школьников, вакцинации подлежали лица, профессиональная деятельность которых связана с риском нападения клещей, и жители сельских районов.

Особое внимание уделяли активной иммунизации школьников, так как, независимо от периода и уровня заболеваемости КЭ, группой максимального риска были дети в возрасте от 7 до 16 лет (средний многолетний показатель инцидентности – 23,39 ‰ [95% ДИ = 21,75-24,98]) (табл. 1). Доля вакцинированных среди них к 2014 году составила 52 %, среди взрослых – только 14 %. Вакцинация детей в комплексе с другими специфическими и неспецифическими мерами позволила снизить инцидентность школьников в 5,8 раз (с 8,46 ‰ [95% ДИ = 5,67-12,71] в 2007 году до 1,45 ‰ [95% ДИ = 0,40-3,68] в 2014 году) (рис. 3).

Заболеваемость всего населения КЭ зависела от частоты нападения клещей. Установлена высокой силы прямая корреляционная связь между заболева-

**Таблица 1**
**Заболеваемость клещевым энцефалитом (КЭ) разных возрастных групп в Кемеровской области в 1958–2014 гг. (на 100 тысяч)**
**Table 1**
**The incidence of tick-borne encephalitis in different age groups in the Kemerovo region, 1958–2014 (per 100 thousand)**

| Возрастные группы (годы) | II период | III период | | Средняя многолетняя заболеваемость |
|---|---|---|---|---|
| | Всего 1958-1989 годы | Всего 1990-2014 годы | в т.ч. 2004-2014 годы | |
| 0-1 | 0,20 | 1,66 | 1,8 | 0,98 |
| 2-6 | 7,39 | 12,98 | 5,62 | 11,70 |
| 7-16 | 11,99 | 27,27 | 8,54 | 23,39 |
| 17-40 | 4,10 | 10,49 | 6,94 | 7,67 |
| 41-60 | 3,30 | 9,25 | 6,42 | 6,82 |
| 61 и старше | 1,13 | 7,03 | 5,02 | 4,46 |
| Всего: | 6,56 | 11,15 | 6,02 | 8,65 |

емостью КЭ и частотой обращений по поводу присасывания клещей (R = 0,99; p = 0,05).

Сельские жители на протяжении всего периода 1952-2014 годов болели КЭ чаще по сравнению с городскими. Средняя многолетняя заболеваемость жителей села в 2,3 раза выше, чем городского (6,64 ‰ [95% ДИ = 5,75-7,67] и 15,55 ‰ [95% ДИ = 14,17-16,94], соответственно). Одна из причин такого различия – в 2,5 раза более частое нападение клещей на жителей сельской местности (3395,96 ‰ [95% ДИ = 3327,13-3466,53]), по сравнению с городским (1351,45 ‰ [95% ДИ = 1308,35-1396,43]).

На протяжении многих лет в Кемеровской области проводится мониторинг зараженности клещей I. persulcatus вирусом клещевого энцефалита. Клещи I. persulcatus составляли 96,7 % от числа всех собранных особей и встречались во всех ландшафтно-географических зонах области. Средняя многолетняя вирусофорность за период 2005-2014 гг. составила 2,2 ± 0,28 %. Вместе с тем, установлены различия уровня зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита на разных административных территориях области, доля положительных проб колебалась от 0,8 % до 4,1 %. Выявлены изменения вирусофорности в многолетней динамике в пределах каждого района, что обусловлено особенностями жизненного цикла I. persulcatus и их прокормителей.

Ранее проведенными исследованиями [10-13] установлено преобладание сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита на территории Кемеровской области. Только в 1953-1963 гг. из 4-х изученных штаммов половина были отнесены к дальневосточному подтипу. Из 62 штаммов ВКЭ, выделенных в 1967-1970 гг., генотипированием установлена принадлежность подавляющего большинства (93,55 ± 3,1 %) к сибирскому подтипу, и 4 (6,45 %) оказались «микст-штаммами», т.к. содержали генетические структуры сибирского и дальневосточного подтипов. В 2005 и 2008 гг. в клещах, собранных на территории области, обнаруживали только РНК ВКЭ сибирского генотипа [11, 13].

В клещах, собранных в 2014 г., обнаружен ВКЭ только сибирского генотипа (табл. 2). Но при этом следует отметить высокое разнообразие топовариантов вируса на изученной территории. Из шести генотипированных изолятов ВКЭ 2014 года из Кемеровского района выявлены 4 образца (3.7, 7.4, 8.5, 78), относящиеся к азиатскому топоварианту: группе с прототипным штаммом Васильченко, 1 (377) – к европейскому топоварианту, 1 (294) – к новому ге-

**Рисунок 3**
**Заболеваемость КЭ городского и сельского населения в Кемеровской области в 1952–2014 гг.**
**Figure 3**
**The incidence of tick-borne encephalitis in urban and rural areas in the Kemerovo region, 1952–2014**

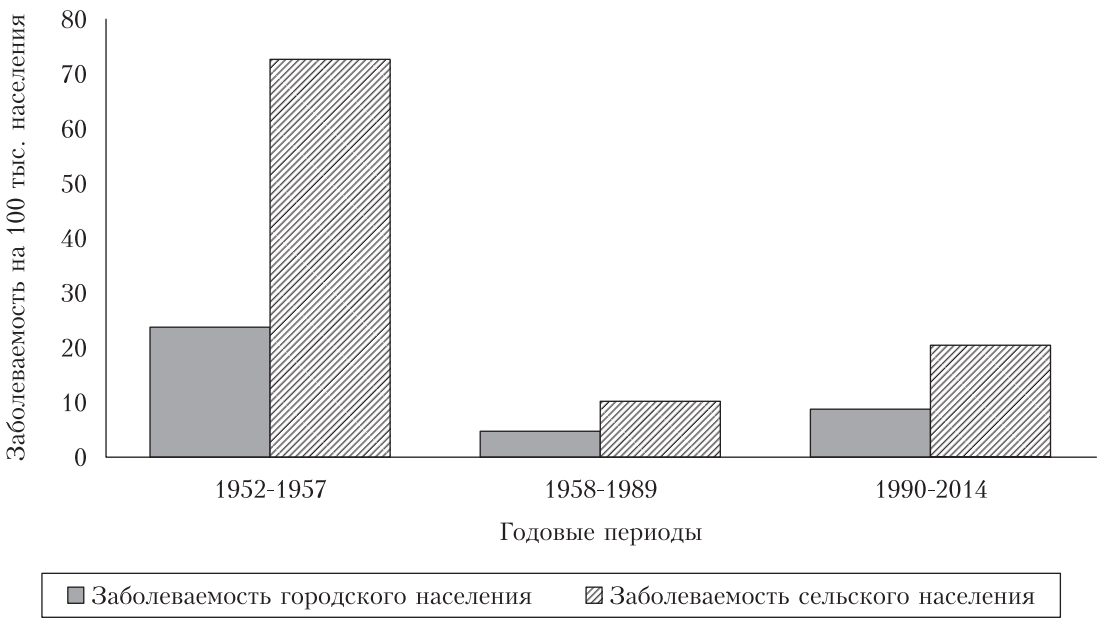


**Таблица 2**
**Анализируемые нуклеотидные последовательности РНК вируса клещевого энцефалита, изолированной из клещей в 2014 г. в Кемеровской области**
**Table 2**
**The analyzed nucleotide sequences of TBEV RNA isolated from ticks in 2014 in Kemerovo region**

| Изолят | Источник изоляции | Район | Населенный пункт | GenBank, NCBI |
|---|---|---|---|---|
| 3.7 | I. persulcatus | Кемеровский | д. Верхотомка | KR633022 |
| 7.4 | I. persulcatus | Кемеровский | д. Старочервово | KR633012 |
| 61 | I. persulcatus | Кемеровский | д. Верхотомка | KR633013 |
| 78 | I. persulcatus | Кемеровский | п. Ягуновка | KR633018 |
| 294 | I. persulcatus | Кемеровский | д.Денисово | KR633017 |
| 377 | I. persulcatus | Кемеровский | п. Кедровка | KR633020 |
| 8.5 | I. persulcatus | Гурьевский | п. Сосновка | KR633021 |
| 15.2 | I. persulcatus | Ижморский | с. Берикуль | KR633015 |
| 25.4 | I. persulcatus | Крапивинский | Комаровка | KR633016 |
| 33.2 | I. persulcatus | Юргинский | с. Верх-Тайменка | KR633019 |
| 156 | I. persulcatus | Топкинский | г. Топки | KR633014 |

новарианту, отличающемуся от всех изученных последовательностей ВКЭ сибирского генотипа на участке Е гена длиной 1396 н.п. минимум на 11 процентов по нуклеотидному составу. Аналогичный 294 образцу новый геновариант ВКЭ детектирован в пробе 25.4, изолированной также в 2014 г. из клещей, собранных в соседнем с Кемеровским Крапивинском районе области. Анализ аминокислотной последовательности Е гена РНК изолятов 25.4 и 294 показал, что выше указанные последовательности имеют лейцин в позиции 206, как и все штаммы сибирского генотипа, в позициях 234 и 448 – аспарагин и лейцин, соответственно, что характерно только для дальневосточного генотипа, в позиции 317 – аланин, и это совпадает с европейским генотипом. В позициях 189 и 278 выявлены уникальные отличия от всех вирусов группы флавивирусов млекопитающих, передающихся клещами, – аминокислота серин вместо аланина и глицина, соответственно. В Прокопьевском районе области, относящемся к южной части Кемеровской области, выявлены образцы из двух подгрупп азиатского топоварианта: кластер «Васильченко» (49, 67) и кластер «Заусаев» (134, 167). В Юргинском, Ижморском, Топкинском районах, относящихся к самым северным границам Кемеровской области, обнаружены изоляты, относящиеся к кластеру «Заусаев».

Таким образом, на территории Кемеровской области в настоящее время выявлены все известные крупные кластеры сибирского генотипа: «Заусаев», «Васильченко» азиатского топоварианта и европейский топовариант, а также обнаружены два изолята, относящиеся к сибирскому генотипу, но удаленные от всех изученных штаммов на генетическое расстояние, более чем в 2 раза превышающее внутригенотипическую дивергенцию (уровень отличий на данном участке Е гена длиной 1276 н.п. для 73 штаммов ВКЭ сибирского генотипа составляет 5,1 ± 0,4 %) [10-14].

## ВЫВОДЫ:

Установлено 3 периода с разными уровнями и тенденциями заболеваемости КЭ в Кемеровской области.

Группы высокого риска при КЭ – дети 7-16 лет и жители сельских районов.

Установлена эпидемиологическая эффективность акарицидных обработок эндемичных территорий в сочетании с массовой вакцинопрофилактикой населения.

В последнее десятилетие на территории Кемеровской области циркулирует вирус клещевого энцефалита только сибирского подтипа с высоким разнообразием топовариантов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Ammosov AD. Tick-borne encephalitis. Koltsovo: Vector-Best, 2002. 115 p. Russian (Аммосов А.Д. Клещевой энцефалит. Кольцово: Вектор-Бест, 2002. 115 с).
2. Zlobin VI, Malov IV, Kozlova IV et al. Prevention strategies encephalitis. Biopreparats. Prevention. Diagnosis. Treatment. 2010; 3(39): 27-29. Russian (Злобин В.И., Малов И.В., Козлова И.В. и др. Стратегии профилактики клещевого энцефалита //Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. 2010. № 3(39). С. 27-29).
3. Zlobin VI. Epidemiological monitoring and prevention of Ixodes tick-borne infections in combined natural foci and anthropurgic. Epidemiology and Vaccinal prevention. 2008; (2): 10-14. Russian (Злобин В.И. Эпидемиологический мониторинг и профилактика иксодовых клещевых инфекций в условиях сочетанных природных и антропургических очагов //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2008. № 2. С. 10-14).
4. Zlobin VI. Modern epidemiological situation and the issues of prevention of tick-borne encephalitis in the Russian Federation. Abstracts: current situation and prospects of the fight against tick-borne infections in the XXI century. Tomsk. 2006: 50-51. Russian (Злобин В.И. Современная эпидемиологическая обстановка и вопросы профилактики клещевого энцефалита в Российской Федерации //Тезисы докладов: Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке. Томск. 2006. С. 50-51).
5. Gorchakovskii NN, Bondarev MP, Komandenko NI. Epidemiological evaluation of the effectiveness of the method of extermination of the carrier in the centers of tick-borne encephalitis. Abstracts of reports at the enlarged meeting of the Committee against tick-borne encephalitis February 8-10, 1962 in Kemerovo. Omsk. 1962: 61-64. Russian (Горчаковская Н.Н., Бондарева М.П., Команденко Н.И. Эпидемиологическая оценка эффективности метода истребления переносчика в очагах клещевого энцефалита //Авторефераты докладов на расширенном заседании комитета по борьбе с клещевым энцефалитом 8-10 февраля 1962 года в г. Кемерово. Омск. 1962. С. 61-64).
6. Naumov RL. Tick-borne encephalitis and Lyme disease: epizootologicheskie parallels and monitoring. Med. parazitol., 1999; (2): 20-26. Russian (Наумов Р.Л. Клещевой энцефалит и болезнь Лайма: эпизоотологические параллели и мониторинг //Мед. паразитол., 1999. № 2. С. 20-26).
7. Sokolov VM, Lysenko GV. The epidemiological situation of tick-borne encephalitis and measures for its prevention in the Kemerovo region. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2010; (4): 47-50. Russian (Соколов В.М., Лысенко Г.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и мероприятия по его профилактике в Кемеровской области //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010. № 4. С. 47-50).

8. Shashina NI. Ways to solve the problems in the Russian Federation, a nonspecific prevention of tick-borne encephalitis and other infections transmitted by ticks. Dezinfec. delo. 2005; (4): 24-30. Russian (Шашина Н.И. Пути решения в Российской Федерации проблем неспецифической профилактики клещевого энцефалита и других инфекций, передаваемых иксодовыми клещами //Дез. дело. 2005. № 4. С. 24-30).
9. Shashina NI, Guermant OM, Luboshnikova VM. About nonspecific prevention of tick-borne encephalitis in the beginning of the XXI century. Bulletin SB RAMS. 2007; (4): 111-115. Russian (Шашина Н.И., Германт О.М., Лубошникова В.М. О неспецифической профилактике клещевого энцефалита в начале XXI века //Бюллетень СО РАМН. 2007. № 4. С. 111-115).
10. Kolyasnikova NM. Monitoring of the tick-borne encephalitis virus population structure in the Urals, Western Siberia and north-western regions of Russia. Medical Science Candidate's Dissertation. Moscow, 2008. 199 p. Russian (Колясникова Н.М. Мониторинг структуры популяции вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западно-Сибирском и Северо-Западном регионах России //Дис. канд. мед. наук. М., 2008. 199 с.).
11. Malenko GV, Pogodina VV, Karan LS et al. Monitoring of tick-borne encephalitis virus population in the Kemerovo region and features a modern epidemic situation. Med. Virusology. Moscow. 2006; (23): 103-109. Russian (Маленко Г.В., Погодина В.В., Карань Л.С. и др. Мониторинг популяций вируса клещевого энцефалита в Кемеровской области и особенности современной эпидситуации //Мед. вирусология. М., 2006. Т. 23. С. 103-109).
12. Pogodina VV, Karan LS, Levina LS et al. 75th anniversary of the discovery of the virus encephalitis. Comparison of early (1937-1945) and modern strains. Vopr. Virusol. 2012: Supplement 1: 66-75. Russian (Погодина В.В., Карань Л.С., Левина Л.С. и др. 75-летие открытия вируса клещевого энцефалита. Сравнение ранних (1937-1945) и современных штаммов //Вопросы вирусологии. 2012. Приложение 1. С. 66-75).
13. Efimova AR, Karan LS, Drozdova OM et al. Tick-borne encephalitis in Kemerovo region: epidemiology and genetic diversity of the virus. Medical Virology. 2015: http://dx.doi.org/10.15610/29_1_1 (Ефимова А.Р., Карань Л.С., Дроздова О.М. и др. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и генетическое разнообразие ВКЭ на территории Кемеровской области //Медицинская вирусология. 2015. http://dx.doi.org/10.15610/29_1_1).
14. Gerasimov SG, Pogodina VV, Kolyasnikova NM et al. Interaction of the Siberian and Far Eastern subtypes of tick-borne encephalitis virus in mammals with mixed infection. I. Factors influencing the type of interaction. Vopr. Virusol. 2011; (2): 19-22. Russian (Герасимов С.Г., Погодина В.В., Колясникова Н.М. и др. Взаимодействие сибирского и дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита при микстинфекции в организме млекопитающих. Факторы, влияющие на тип взаимодействия //Вопросы вирусологии. 2011. № 2. С. 19-22).

***Статья поступила в редакцию 8.09.2015 г.***

**Сармометов Е.В., Сергевнин В.И., Микова О.Е., Зимина В.Н., Варецкая Т.А., Шмагин Д.В.**
*Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями,*
*Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера,*
*г. Пермь*
*Российский университет дружбы народов,*
*г. Москва*

# ЧАСТОТА КОНТАМИНАЦИИ МИКОБАКТЕРИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ, ОКАЗЫВАЮЩЕЙ ПОМОЩЬ ПАЦИЕНТАМ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

**Предмет исследования.** 356 смывов с объектов производственной среды пяти медицинских организаций (поликлиника Центра СПИД, противотуберкулезный стационар для лечения больных с ВИЧ-негативным статусом, стационар для лечения больных ВИЧ-инфекцией, центр лечения и реабилитации лиц, страдающих наркоманией и алкоголизмом, поликлиника общего профиля).
**Цель исследования.** Изучить частоту контаминации микобактериями туберкулеза производственной среды медицинской организации, оказывающей помощь пациентам с ВИЧ-инфекцией.
**Методы исследования.** Молекулярно-генетическое исследование смывов на наличие ДНК микобактерий туберкулеза (МБТ) осуществляли с помощью прибора «Система детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX-96-TOUCH «Bio Rad». Использовали тест систему «Амплитуб».
**Основные результаты.** По данным молекулярно-генетических исследований смывов установлена широкая циркуляция МБТ в поликлинике Центра СПИД, в меньшей степени – в противотуберкулезном стационаре для больных с ВИЧ-негативным статусом. Микробную контаминацию стационара для лечения больных ВИЧ-инфекцией, центра лечения и реабилитации лиц, страдающих наркоманией и алкоголизмом, также регистрировали, но она встречалась значительно реже. В поликлинике общего профиля ДНК МБТ не было обнаружено. Повышенный уровень контаминации микобактериями производственной среды поликлиники Центра СПИД по сравнению с противотуберкулезным стационаром может указывать на то, что контагиозность больных туберкулезом, сочетанным с ВИЧ-инфекцией, более высокая в сравнении с больными туберкулезом с ВИЧ-негативным статусом.

***Ключевые слова:*** *медицинские организации, обслуживающие и не обслуживающие ВИЧ-инфицированных;*
*смывы с объектов производственной среды;*
*частота выделения ДНК микобактерий туберкулеза.*

**Sarmometov E.V., Sergevnin V.I., Mikova O.E., Zimina V.N., Varetskaya T.A., Shmagin D.V.**
*Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases,*
*Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm,*
*Peoples' Friendship University of Russia, Moscow*

**THE FREQUENCY OF MYCOBACTERIA CONTAMINATION OF WORKING ENVIRONMENT IN MEDICAL ORGANIZATION PROVIDING CARE FOR PATIENTS WITH HIV–INFECTION**

**Research subject** is 356 wipe samples from various surfaces of working environment of five healthcare organizations (out-patient clinic of Center for prevention and control of AIDS, TB hospital for treatment patients with HIV-negative status, Hospital for the treatment of HIV-infected patients, Center for treatment and rehabilitation persons, suffering from drug and alcohol addictions, out-patient clinic).
**Purpose of the study** is learning the frequency of mycobacteria contamination of working environment in medical organization, providing care for patients with HIV-infection.
**Research methods.** Molecular genetic testing of wipe samples for the presence of deoxyribonucleic acid (DNA) mycobacterium tuberculosis (MTB) was carried out using the special device «system of detection of real-time polymerase chain reaction CFX-96-TOUCH «Bio Rad»». The test system «Amplitub» was also used.
**Main results.** According to molecular genetic studies of wipe samples the extensive circulation of MTB in the out-patient clinic for HIV-infected patients was established and exceeds the mycobacterium contamination in the tuberculosis hospital for patients with HIV-negative status. Microbial contamination in the hospital for the treatment of HIV-infected patients and in the Center of treatment and rehabilitation of persons suffering from drug addiction and alcoholism was also recorded, but it was much rarer. The mycobacterium tuberculosis DNA in the out-patient clinic was not found. The high level of mycobacterium contamination of the working environment out-patient clinic for HIV-infected patients in comparison with the TB hospital may point at that the contagiousness of patients with tuberculosis associated with HIV infection is higher than among TB patients with HIV-negative status.

***Key words:*** *healthcare organizations which help and doesn`t help HIV-infected people;*
*wipe samples from surfaces of working environment;*
*the frequency of mycobacterium tuberculosis DNA isolation.*

В течение всего периода развития эпидемии ВИЧ-инфекции в Российской Федерации наиболее распространенным вторичным заболеванием был и остается туберкулез, количество больных ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ) ежегодно увеличивается на 10-15 % [1-3]. Среди впервые выявленных больных туберкулезом, состоящих на учете в противотуберкулезных учреждениях, на конец 2014 г. доля больных сочетанной инфекцией составила 15,1 % (форма № 33). За счет больных с ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ) возрастает количество источников микобактерий туберкулеза (МБТ), что осложняет эпидемиологическую ситуацию по туберкулезной инфекции в целом и особенно среди людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ).

Между тем, до настоящего времени спорным остается вопрос о степени эпидемиологической опасности больных ко-инфекцией как источника МБТ. По мнению одних исследователей, больные туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией менее заразны, чем больные с ВИЧ-негативным статусом. Это подтверждается тем, что среди контактных лиц с больными ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ), в сравнении с контактными с больными туберкулезом с ВИЧ-негативным статусом, реже обнаруживаются МБТ и регистрируются положительные пробы Манту [4], реже выделяются генетически сходные микобактерии в целом [5]. В то же время есть мнение, что разницы в частоте мокротопозитивности и регистрации положительных кожных реакций на туберкулез у лиц, общавшихся с больными ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ) и туберкулезной моноинфекцией, нет [6]. Наконец, есть работы, указывающие, что больные туберкулезом на фоне ВИЧ-инфекции более контагиозны, нежели больные монотуберкулезом. Это подтверждается более высокой частотой положительных кожных тестов на туберкулез среди контактных лиц с ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ) по сравнению с контактными с моноинфекцией туберкулеза [7].

В последние годы появились сообщения о том, что степень эпидемиологической опасности больных туберкулезом можно оценивать с помощью исследования смывов с окружающих предметов на ДНК МБТ в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Такие исследования проведены в условиях противотуберкулезных диспансеров и медицинских организаций (МО) общего профиля [8-10]. При этом на примере противотуберкулезного диспансера установлено [8], что в 32,1 % проб больничной среды количество ДНК было достаточным для определения мутаций устойчивости, что свидетельствует о наличии не менее 100-300 клеток МБТ в исследуемой пробе смывов. Подчеркнуто, что концентрация циркулирующих в больничной среде МБТ имеет прямую зависимость от числа бактериовыделителей.

**Цель работы** – проанализировать частоту контаминации микобактериями туберкулеза производственной среды медицинской организации, оказывающей помощь пациентам с ВИЧ-инфекцией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методом ПЦР на наличие ДНК МБТ туберкулеза исследовано 356 смывов с объектов производственной среды пяти МО Пермского края (поликлиника Центра СПИД, противотуберкулезный стационар для лечения больных с ВИЧ-негативным статусом, стационар для лечения больных ВИЧ-инфекцией, центр

**Корреспонденцию адресовать:**
СЕРГЕВНИН Виктор Иванович,
614094, г. Пермь, ул. Мильчакова, д. 18, кв. 59.
Тел.: +7-912-592-91-40.
E-mail: victor-sergevnin@mail.ru

лечения и реабилитации лиц, страдающих наркоманией и алкоголизмом, поликлиника общего профиля). Во время работы учреждений смывы отбирали с разных предметов в палатах, коридорах, туалетных комнатах. Молекулярно-генетическое исследование смывов осуществляли с помощью прибора «Система детекции продуктов ПЦР в реальном времени CFX-96-TOUCH «Bio Rad». Использовали тест систему «Амплитуб». Обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6. Значимость различий показателей определяли с помощью критерия соответствия ($\chi^2$). Различия показателей считали статистически значимыми ($p < 0,05$) при значении $\chi^2 \geq 3,84$.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Максимальная частота контаминации ДНК МБТ производственной среды обнаружена в поликлинике Центра СПИД, где доля положительных смывов составила 42,8 ± 8,34 % (табл.). Генетический материал МБТ (ДНК) выделялся со стен, пола, дверей и оборудования туалета (в 100 % случаев), стен, пола и дверей кабинетов врачей и коридора (в 58,3 ± 14,88 %), мебели (в 33,3 ± 14,18 %), медицинских приборов и спецодежды персонала (в 22,2 ± 14,65 %). Достоверных различий между показателями загрязненности отдельных объектов не обнаружено ($\chi^2$ колебался от 0,32 до 2,39; p – от 0,12 до 0,73).

В противотуберкулезном стационаре ДНК МБТ в целом была выявлена в 9,7 ± 2,1 % проб. Контаминированными были стены, пол и оборудование в туалете (в 15,5 ± 3,62 % случаев), стены, пол и двери кабинетов врачей и коридора (в 9,1 ± 6,2 %), мебель (в 4,3 ± 2,85 %), медицинские приборы и спецодежда (в 2,5 ± 2,21 %) при отсутствии статистически значимых различий между показателями ($\chi^2$ колебался от 0,06 до 3,44; p – от 0,06 до 1,0). В то же время, в целом показатель ДНК-контаминации больничной среды был достоверно выше в терапевтическом отделении (21,1 ± 4,96 %), где находились на лечении больные туберкулезом легких, чем в приемно-диагностическом (5,0 ± 2,82 %), где у значительной части пациентов выявлялась патология нетуберкулезной этиологии, и хирургическом (1,4 ± 1,40 %), где соблюдался строгий дезинфекционно-стерилизационный режим ($\chi^2$ = 5,92 и 11,79; p = 0,01 и 0,001, соответственно).

Важно отметить, что показатель микробной контаминации производственной среды поликлиники, обслуживающей ВИЧ-инфицированных пациентов, был в 4,4 раза выше, чем противотуберкулезного стационара ($\chi^2$ = 23,87; p = 0,0005).

В стационаре, осуществляющем лечение больных ВИЧ-инфекцией, частота положительных проб составила 5,0 ± 2,81 %, в центре по лечению и реабилитации наркоманов и больных алкоголизмом – 2,5 ± 2,47 %, т.е. достоверно ниже, чем в поликлинике, обслуживающей больных ВИЧ-инфекцией ($\chi^2$ = 18,24 и 15,79; p = 0,0005 в обоих случаях). В поликлинике общего профиля все пробы оказались отрицательными.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Из числа изученных МО загрязненной ДНК МБТ в основном оказалась производственная среда поликлиники Центра СПИД и противотуберкулезного стационара. Причем частота микробной контаминации внешней среды в специализированной поликлинике для больных ВИЧ-инфекцией была существенно выше, чем в противотуберкулезном стационаре для больных туберкулезом с ВИЧ-негативным статусом. Это можно объяснить несколькими причинами.

**Сведения об авторах:**

САРМОМЕТОВ Евгений Валерьевич, канд. мед. наук, главный врач, ГКУЗ «ПКЦ СПИД и ИЗ», г. Пермь, Россия. E-mail: sarmometov67@mail.ru

СЕРГЕВНИН Виктор Иванович, доктор мед. наук, профессор, кафедра эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии ФДПО, ГБОУ ВПО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, Россия. E-mail: victor-sergevnin@mail.ru

МИКОВА Оксана Евстигнеевна, зам. главного врача по лечебной работе, ГКУЗ «ПКЦ СПИД и ИЗ», г. Пермь, Россия. E-mail: mikovaoe@mail.ru

ЗИМИНА Вера Николаевна, доктор мед. наук, доцент, кафедра инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии, ФГАОУ ВО РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: vera-zim@yandex.ru

ВАРЕЦКАЯ Татьяна Альбертовна, зав. бактериологической лабораторией, ГКУЗ «ПКЦ СПИД и ИЗ», г. Пермь, Россия.

ШМАГИН Дмитрий Владимирович, врач-эпидемиолог, ГКУЗ «ПКЦ СПИД и ИЗ», г. Пермь, Россия. E-mail: 30dyma@rambler.ru

**Information about authors:**

SARMOMETOV Eugene Valeryevich, candidate of medical sciences, chief physician, Perm Regional Center for Prevention and Control of Acquired Immunodeficiency Syndrome and Infectious Diseases, Perm, Russia. E-mail: sarmometov67@mail.ru

SERGEVNIN Viktor Ivanovich, doctor of medical sciences, professor, department of epidemiology with a course of hygiene and epidemiology, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russia. E-mail: victor-sergevnin@mail.ru

MIKOVA Oksana Evstigneevna, deputy chief physician, Perm Regional Center for Prevention and Control of Acquired Immunodeficiency Syndrome and Infectious Diseases, Perm, Russia. E-mail: mikovaoe@mail.ru

ZIMINA Vera Nikolaevna, doctor of medical sciences, docent, department of infectious diseases, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. E-mail: vera-zim@yandex.ru

VARETSKAYA Tatyana Albertovna, head of the bacteriological laboratory, Perm Regional Center for Prevention and Control of Acquired Immunodeficiency Syndrome and Infectious Diseases, Perm, Russia.

SHMAGIN Dmitriy Vladimirovich, epidemiologist, Perm Regional Center for Prevention and Control of Acquired Immunodeficiency Syndrome and Infectious Diseases, Perm, Russia. E-mail: 30dyma@rambler.ru

Во-первых, известно, что наиболее заразными являются больные туберкулезом, которые еще не знают о своем заболевании и не получают специфического лечения (именно такие больные с ко-инфекцией посещают поликлинику Центра СПИД).

Во-вторых, согласно действующим санитарным правилам (СанПиН 2.1.3.1375-03), в противотуберкулезных учреждениях предусмотрен более строгий противоэпидемический режим, чем в поликлинических учреждениях, в т.ч. в поликлиниках, обслуживающих ВИЧ-инфицированных.

В третьих, и это главное, вероятно лица с ко-инфекцией (ВИЧ-и/ТБ) выделяют МБТ чаще и являются более массивными бактериовыделителями, чем больные туберкулезом с ВИЧ-негативным статусом. Так, в ряде клинических работ показано, что бактериовыделение у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией встречается чаще, чем у ВИЧ-негативных [11-13]. В работе Н.М. Корецкой и И.П. Большаковой [14] при изучении жизнеспособности МБТ туберкулеза (по скорости и массивности роста) у ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных больных диссеминированным туберкулезом легких были показаны преобладание возбудителя с высокой жизнеспособностью и более значительная массивность бактериовыделения у ВИЧ-позитивных больных. Попова А.А. и соавт. [15] указывают, что уменьшение CD4+ лимфоцитов, играющих ключевую роль в противотуберкулезном иммунитете, у больных с сочетанной инфекцией сопровождается усиленным размножением МБТ в легких и диссеминацией возбудителя. Соответственно. у больных ВИЧ-инфекцией диссеминированный и генерализованный туберкулез развиваются гораздо чаще, чем у больных с моноинфекцией туберкулеза [16].

**Таблица**
**Результаты исследования смывов с объектов производственной среды медицинской организации разного профиля на наличие ДНК микобактерий туберкулеза**
**Table**
**The results of wipe samples from the surfaces of working environment in different field`s medical organization for the presence of mycobacterium's tuberculosis DNA**

| Медицинские организации | Объекты | Кол-во проб | Выделена ДНК | |
|---|---|---|---|---|
| | | | абс. | % ± m |
| Поликлиника центра СПИД | Стены, пол, двери | 12 | 7 | 58,3 ± 14,88 |
| | Мебель | 12 | 4 | 33,3 ± 14,18 |
| | Медицинские приборы, спецодежда | 9 | 2 | 22,2 ± 14,65 |
| | Стены, пол, оборудование туалета | 2 | 2 | 100 |
| | Всего | 35 | 15 | 42,8 ± 8,34 |
| Противотуберкулезный стационар | Стены, пол, двери | 97 | 15 | 15,5 ± 3,62 |
| | Мебель | 47 | 2 | 4,3 ± 2,85 |
| | Медицинские приборы, спецодежда | 40 | 1 | 2,5 ± 2,21 |
| | Стены, пол, оборудование туалета | 22 | 2 | 9,1 ± 6,2 |
| | Всего | 206 | 20 | 9,7 ± 2,1 |
| Стационар для лечения больных СПИД | Стены, пол, двери | 24 | 2 | 8,3 ± 5,65 |
| | Мебель | 16 | 1 | 6,3 ± 6,13 |
| | Медицинские приборы, спецодежда | 10 | 0 | 0 |
| | Стены, пол, оборудование туалета | 10 | 0 | 0 |
| | Всего | 60 | 3 | 5,0 ± 2,81 |
| Центр лечения и реабилитации лиц, страдающих наркоманией и алкоголизмом | Стены, пол, двери | 21 | 1 | 4,8 ± 2,81 |
| | Мебель | 6 | 0 | 0 |
| | Медицинские приборы, спецодежда | 7 | 0 | 0 |
| | Стены, пол, оборудование туалета | 6 | 0 | 0 |
| | Всего | 40 | 1 | 2,5 ± 2,47 |
| Поликлиника общего профиля | Стены, пол, двери | 5 | 0 | 0 |
| | Мебель | 2 | 0 | 0 |
| | Медицинские приборы, спецодежда | 3 | 0 | 0 |
| | Стены, пол, оборудование туалета | 5 | 0 | 0 |
| | Всего | 15 | 0 | 0 |

Примечание: ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота.
Note: ДНК - deoxyribonucleic acid.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным молекулярно-генетических исследований смывов с объектов производственной среды разных МО на наличие ДНК МБТ установлена широкая циркуляция возбудителя в поликлинике Центра СПИД, в меньшей степени — в противотуберкулезном стационаре для больных с ВИЧ-негативным статусом. Микробная контаминация стационара для лечения больных ВИЧ-инфекцией, центра лечения и реабилитации лиц, страдающих наркоманией и алкоголизмом, также регистрировалась, но была значительно ниже. В поликлинике общего профиля ДНК микобактерий не обнаружена. Повышенный уровень контаминации микобактериями поликлиники, обслуживающей ВИЧ-инфицированных пациентов, по сравнению с противотуберкулезным стационаром может указывать на то, что контагиозность больных туберкулезом, сочетанным с ВИЧ-инфекцией, более высокая по сравнению с больными туберкулезом с ВИЧ-негативным статусом.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Sarmometov EV, Sergevnin VI, Shmagin DV, Mikova OE. The priority of HIV infection in formation of HIV infection combined with tuberculosis Epidemiology and infectious diseases. Actual questions. 2014; (5): 61-64. Russian (Сармометов Е.В., Сергевнин В.И., Шмагин Д.В, Микова О.Е. О пер-

вичности ВИЧ-инфекции в формировании ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом //Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2014. № 5. С. 61-64.).

2. Zimina VN, Kravchenko AV, Viktorova IB. Epidemiology, course of disease and distinctions of treatment of TB in HIV-infected persons. Medicine in Kuzbass. 2011; (3): 6-13. Russian (Зимина В.Н., Кравченко А.В., Викторова И.Б. Эпидемиология, течение и особенности лечения туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией //Медицина в Кузбассе. 2011. № 3. С. 6-13.).
3. Pokrovsky VV, Ladnaya NN. HIV-infection. Information bulletin. Moscow. 2014; (39): 52. Russian (ВИЧ-инфекция: информационный бюллетень /под ред. В.В. Покровского, Н.Н. Ладная. М., 2014. № 39. 52 с.).
4. Mohammad Z, Naing NN, Salleh R, Ahmad N, Hamzah WM, Mahmud R. A preliminary study of the influence of HIV infection in the transmission of tuberculosis. Southeast. Asian J Trop Med Public Health. 2002; 1: 92-98.
5. Amelia C. Crampin, Judith R. Glynn, Hamidou Traore, Malcolm D. Yates, Lorren Mwaungulu, Michael Mwenebabu, Steven D. Chaguluka, Sian Floyd, Francis Drobniewski, Paul E.M. Fine. Tuberculosis Transmission Attributable to Close Contacts and HIV Status, Malawi. Emerg. Infect. Dis. 2006; 12(5): 729-735.
6. Klausner JD, Ryder RW, Baende E, Lelo U, Williame JC, Ngamboli K, Perriens JH, Kaboto M, Prignot J. Mycobacterium tuberculosis in household contacts of human immunodeficiency virus type 1-seropositive patients with active pulmonary tuberculosis in Kinshasa, Zaire. J. Infect. Dis. 1993; 168(1): 106-111.
7. Cruciani M, Malena M, Bosco O, Gatti G, Serpelloni G. The impact of human immunodeficiency virus type 1 on infectiousness of tuberculosis: a meta-analysis. Clin. Infect. Dis. 2001; 33(11): 1922-1930.
8. Eremeeva NI, Kravchenko MA, Vakhrusheva DV, Kanischev VV, Bobrovskaya KV, Umpeleva TV. Evaluation of working environment of TB hospital as a component of infection control system. Medical alliance. 2013; (4): 41-52. Russian (Еремеева Н.И.., Кравченко М.А., Вахрушева Д.В., Канищев В.В., Бобровская К.В., Умпелева Т.В. Оценка контаминации внешней среды противотуберкулезного стационара как компонент системы инфекционного контроля //Медицинский альянс. 2013. № 4. С. 41-52.).
9. Mordovskoy GG, Ponikarovskaya IV, Yakushkina LY, Putyrsky VP, Yampolsky VL, Panov GV. Differentiation methods of mycobacterium tuberculosis in sanitary-bacteriological estimating impurity of air and surfaces in the TB medical organizations. Bulletin of Urals medical academic science. 2015; (2):16-18. Russian (Мордовской Г.Г., Поникаровская И.В., Якушкина Л.Ю., Путырский В.П., Ямпольский В.Л., Панов Г.В. Методы выделения микобактерий туберкулеза при санитарно-бактериологической оценке загрязненности воздуха и поверхностей противотуберкулезных учреждений //Вестник Уральской медицинской академической науки. 2015. № 2. С. 16-18.).
10. Pokrovsky VI, Stepanova TF, Kornachev AS, Semina NA, Golubev DN. The characteristic of threats and preventive measures of territorial and nosocomial spread of tuberculosis in the Russian Federation. Epidemiology and infectious diseases. 2007; (6): 11-18. Russian (Покровский В.И., Степанова Т.Ф., Корначев А.С., Семина Н.А., Голубев Д.Н. Характеристика угроз территориального и внутрибольничного распространения туберкулеза в Российской Федерации и меры по их профилактике //Эпидемиология и инфекционные болезни. 2007. № 5. С. 11-18.).
11. Zagdyn ZM, Velenov AY, Shabalin VN, Heimer R. Last diacrisis of tuberculosis and mortality causes among HIV-infected and uninfected patients in Leningradsky District. HIV-infection and immunosuppression. 2010; 2(1): 70-77. Russian (Загдын З.М., Веленов А.Ю., Шабалин В.Н., Хаймер Р. Поздно выявленный туберкулез среди больных инфицированных и не инфицированных ВИЧ в Ленинградской области и причины их смерти //ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. 2010. Т. 2. № 1. С. 70-77.).
12. Panteleev AM. Bacterioexcretion and drug resistance of mycobacterium tuberculosis in HIV-infected patients with tuberculosis in St. Petersburg. HIV-infection and immunosuppression. 2011; (2): 57-62. Russian (Пантелеев А.М. Бактериовыделение и лекарственная устойчивость МБТ при туберкулезе у ВИЧ-инфицированных людей в Санкт-Петербурге //ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. 2011. № 2. С. 57-62.).
13. Koretskaya NM, Bolshakova IA. Biological properties of mycobacterium tuberculosis in HIV-infected and uninfected patients with disseminated tuberculosis. Siberian medical review. 2012; (4): 62-66. Russian (Корецкая Н.М., Большакова И.А. Биологические свойства микобактерий у ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных лиц с диссеминированным туберкулезом //Сибирское медицинское обозрение. 2012. № 4. С. 62-66).
14. Popova AA, Sindykova YR, Kravchenko AV, Serebrovskaya LV. The immunity system changes in HIV-infected patients with tuberculosis. Epidemiology and infectious diseases. 2008; (4): 54-55. Russian (Попова А.А., Синдыкова Ю.Р., Кравченко А.В., Серебровская Л.В. Изменения системы иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом //Эпидемиология и инфекционные болезни. 2008. № 4. С. 54-55).
15. Haertynova IM, Valiyev RSh., Tsibulkin AP, Valiev NR, Khamzina RV, Lazarenko OG, Romanenko SE. Clinical and immunological features of HIV-infection in combination with tuberculosis. Tuberculosis and lung diseases. 2009; (6): 41-46. Russian (Хаертынова И.М., Валиев Р.Ш., Цибулькин А.П., Валиев Н.Р., Хамзина Р.В., Лазаренко О.Г., Романенко С.Э. Клинико-иммунологические особенности ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом //Туберкулез и болезни легких. 2009. № 6. С. 41-46).
16. Haertynova IM, Valiyev RSh., Tsibulkin AP, Valiev NR, Khamzina RV, Lazarenko OG, Romanenko SE, Clinical and immunological features of HIV-infection in combination with tuberculosis. Tuberculosis and lung diseases. 2009; (6): 41-46. Russian (Хаертынова И.М., Валиев Р.Ш., Цибулькин А.П., Валиев Н.Р., Хамзина Р.В., Лазаренко О.Г., Романенко С.Э. Клинико-иммунологические особенности ВИЧ-инфекции, сочетанной с туберкулезом //Туберкулез и болезни легких. 2009. № 6. С. 41-46.).

*Статья поступила в редакцию 22.09.2015 г.*

**Вотинцев М.Н., Зуева Л.П., Козлов С.С., Азаров Д.В., Гончаров А.Е.**
*Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,*
*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,*
*Институт экспериментальной медицины,*
*г. Санкт-Петербург*

# БЛАСТОЦИСТНАЯ ИНВАЗИЯ: ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СВЯЗЬ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КОЖИ

**Предмет исследования.** Предметом исследования явились факторы риска заражения бластоцистозом пациентов, госпитализированных в инфекционный стационар в связи с острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии.
**Цель исследования** – установление факторов риска заражения бластоцистозом пациентов с острыми кишечными заболеваниями неустановленной этиологии, госпитализированных в инфекционный стационар.
**Методы исследования.** Исследование по типу «случай-контроль».
**Основные результаты.** Частота идентификации Blastocystis spp. методом ПЦР с родоспецифическими праймерами у госпитализированных больных составила 7,82 на 100 (95% ДИ 5,43-11,14). Исследование позволило выявить ассоциацию бластоцистоза с дерматозами – OR = 23,04 (95% ДИ 2,29-231,33).
**Область применения.** Учитывая выявленную ассоциацию между заболеваниями кожи и бластоцистозом, представляется целесообразным изучение возможных причинно-следственных связей между этими состояниями в проспективных когортных исследованиях.
**Заключение.** Больные хроническими дерматозами могут рассматриваться как группа риска инвазирования патогенными бластоцистами и как потенциальный резервуар бластоцистной инвазии.

***Ключевые слова:*** *бластоцистная инвазия; полимеразная цепная реакция; факторы риска; случай-контроль; дерматозы.*

**Votintsev M.N., Zueva L.P., Kozlov S.S., Azarov D.V., Goncharov A.E.**
*North-western State Medical University. named after I.I. Mechnikov,*
*Military Medical Academy named after C.M. Kirov,*
*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg*

**THE BLASTOCYST INVASION: A POTENTIAL LINK WITH THE CUTANEOUS DISORDERS**

**Objective.** The epidemiological characteristics of blastocystosis have been insufficiently studied to date. The present study concerned to estimation the risk factors of blastocystosis in hospitalized patients.
**Aim of the study** – the present study is concerned with the risk factors of blastocystosis among patients with acute intestinal diseases of unknown etiology, hospitalized in an infectious hospital.
**Design and methods.** Case-control study.
**Results.** The prevalence rate was 7,82 per 100 (95% CI 5,43-11,14) by using PCR with species-specific primers. The study revealed an association of blastocystosis with dermatoses – OR = 23,04 (95% CI, 2,29-231,33).
**Domain of usage.** Based on the identified association between skin diseases and blastocystosis, there is a need to undertake further investigation of their relationships in prospective cohort studies.
**Conclusions.** Patients with chronic dermatoses may be considered as a risk group and a potential reservoir of blastocystic invasion.

***Key words:*** *blastocystis invasion; polymerase chain reaction; risk factors; case-control; dermatoses.*

Бластоцисты (Blastocystis spp.) – род одноклеточных эукариотических микроорганизмов, паразитирующих в кишечнике человека и животных. На протяжении многих лет микроорганизм расценивался как комменсал, не имеющий медицинского значения, однако в последние годы ситуация кардинально изменилась в связи с появившимися данными о связи бластоцистной инвазии с заболеваниями желудочно-кишечного тракта [1]. В настоящее время активно дискутируется вопрос об этиологической роли бластоцистной инвазии в развитии острых и хронических кишечных расстройств, синдрома раздраженного кишечника [2], а также некоторых внекишечных заболеваний (крапивница, аллергодерматозы) [3-5].

Данные различных исследований указывают на ряд потенциальных факторов риска, способствующих инфицированию. К числу таких факторов относят пребывание в социально неблагополучных регионах и группах населения [6], контакт с зараженными животными, употребление контаминированной воды или пищи, иммиграция и путешествия в тропические страны [7-9]. Отдельные исследования относят к группам риска лиц, страдающих от хронического вирусного гепатита В, ВИЧ-инфицированных и лиц с иммунодефицитом [10-12].

В то же время, эпидемиологические исследования по оценке факторов риска заражения бластоцистозом в нашей стране имеют ограниченный характер в силу сложности диагностики данного протозооза. Не-

**Корреспонденцию адресовать:**
ГОНЧАРОВ Артемий Евгеньевич,
195067, г. Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47, корп. 2/4.
Тел.: +7-812-303-50-00.
E-mail: phage1@yandex.ru

обходимо отметить, что наиболее широко распространенные методы паразитологической диагностики, основанные на микроскопии, значительно уступают в эффективности молекулярно-биологическим методам, в частности полимеразной цепной реакции, что определяет необходимость проведения эпидемиологических исследований с использованием современных технологий молекулярной идентификации бластоцист.

**Цель исследования** – выявить основные факторы риска заражения бластоцистозом пациентов, госпитализированных в инфекционный стационар в связи с острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании, организованном по принципу «случай-контроль», в течение 2013-2015 годов приняли участие 345 пациентов отделения острых кишечных инфекций инфекционного стационара, при обследовании которых методом полимеразной цепной реакции с родоспецифическими праймерами к Barcode-участку SSUrDNA [13] у 27 был установлен факт инфицирования Blastocystis spp.

В процессе исследования всем пациентам предлагалось заполнить опросник, включающий вопросы, направленные на выявление потенциальных факторов риска заражения (факторы, связанные с гигиеническими и социально-бытовыми условиями проживания, выезд за границу, контакт с животными, употребление питьевой воды из небезопасных источников, наличие некоторых хронических заболеваний и т.п.). В ходе анкетирования двое из инфицированных пациентов отказались от заполнения опросника. Таким образом, в группу случаев вошли 25 пациентов. Из 318 неинфицированных пациентов, заполнивших опросники, случайным образом была сформирована группа контроля численностью 170 человек. Соотношение случаи/контроли, таким образом, составило 1/6,8. Расчет отношения шансов проводился для ряда предполагаемых факторов риска (социально-экономическое неблагополучие, контакт с животными, употребление питьевой воды из ненадежных в микробиологическом отношении источников, выезд за границу, наличие различных хронических заболеваний и др.)

Отношения шансов (OR) для предполагаемых факторов риска и доверительные интервалы для них, рассчитывались в приложении EpiCalc.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Превалентность бластоцистной инвазии в изучаемой группе составила 7,82 на 100 обследованных (95% ДИ 5,43-11,14), что в целом приближается к показателям, полученным в подобных превалентных исследованиях в Европейских странах [14].

Результаты оценки значимости отдельных факторов риска приведены в таблице.

Из всех рассмотренных факторов риска и состояний, ассоциированных с бластоцистозом, статистически значимое отношение шансов было получено для фактора – «кожные заболевания (дерматозы)», OR = 23,04 при 95% ДИ 2,29-231,33.

Связь бластоцистной инвазии с дерматологической патологией, в частности с крапивницей, отмечалась в ряде исследований [15, 16]. В одной из отечественных публикаций [17] отмечалась высокая инвазированность бластоцистами пациентов с атопичес-

**Сведения об авторах:**

ВОТИНЦЕВ Максим Николаевич, аспирант, кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия.

ЗУЕВА Людмила Павловна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия.

КОЗЛОВ Сергей Сергеевич, доктор мед. наук, профессор, кафедра инфекционных болезней, руководитель курса медицинской паразитологии и тропических заболеваний, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия.

АЗАРОВ Даниил Валерьевич, аспирант, кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия.

ГОНЧАРОВ Артемий Евгеньевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова; ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: phage1@yandex.ru

**Information about authors:**

VOTINTSEV Maxim Nikolayevich, postgraduate student, department of epidemiology, parasitology and disinfectology, Northwest State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia.

ZUEVA Lyudmila Pavlovna, doctor of medical sciences, professor, head of department of epidemiology, parasitology and disinfectology, Northwest State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia.

KOZLOV Sergey Sergeevich, doctor of medical sciences, professor, department of infectious diseases, course director of medical parasitology and tropical medicine, Military Medical Academy n.a. S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia.

AZAROV Daniil Valeryevich, postgraduate student, department of epidemiology, parasitology and disinfectology, Northwest State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia.

GONCHAROV Artemy Evgenyevich, candidate of medical sciences, docent, department of epidemiology, parasitology and disinfectology, Medical University n.a. I.I. Mechnikov; head of the laboratory of functional genomics and proteomics of microorganisms, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: phage1@yandex.ru

**Таблица**
**Потенциальные факторы риска заражения бластоцистной инвазией и ассоциированные с ней состояния**
**Table**
**Potential risk factors for blastocystis invasion and associated diseases**

| Фактор риска | Отношение шансов | 95% ДИ |
|---|---|---|
| Пол | | |
| Мужской | 0,13 | 0,02 - 1,02 |
| Женский | 7,3 | 0,98 - 54,39 |
| Возраст | | |
| 14-20 лет | 0,55 | 0,07 - 4,41 |
| 20-40 лет | 0,71 | 0,30 - 1,65 |
| 40 -60 лет | 1,50 | 0,58 - 3,87 |
| Старше 60 лет | 1,68 | 0,57 - 4,94 |
| Социальные и бытовые факторы | | |
| Проживание в отдельной квартире | 1,45 | 0,59 - 3,55 |
| Проживание в коммунальной квартире | 0,69 | 0,14 - 2,97 |
| Отличные бытовые условия | 1,23 | 0,49 - 3,04 |
| Хорошие бытовые условия | 1,30 | 0,56 - 3,03 |
| Удовлетворительные бытовые условия | 0,45 | 0,13 - 1,61 |
| Проживает один | 1,22 | 0,33 - 4,53 |
| Проживает совместно с одним человеком | 0,84 | 0,29 - 2,38 |
| Проживает совместно с двумя людьми | 0,58 | 0,18 - 1,78 |
| Проживает совместно с тремя и более людьми | 1,30 | 0,55 - 3,04 |
| Незаконченное школьное образование | 1,72 | 0,18 - 16,12 |
| Среднее общее образование | 1,77 | 0,72 - 4,30 |
| Среднее специальное образование | 0,84 | 0,34 - 2,06 |
| Наличие высшего образования | 0,49 | 0,16 - 1,52 |
| Контакт с животными | | |
| Постоянный контакт с животными | 1,10 | 0,48 - 2,56 |
| Наличие домашних животных | 1,28 | 0,55 - 2,98 |
| Постоянный контакт с кошками | 0,67 | 0,29 - 1,56 |
| Постоянный контакт с собаками | 0,65 | 0,26 - 1,60 |
| Водный фактор | | |
| Периодическое употребление некипяченой воды "из под крана" | 1,81 | 0,71 - 4,32 |
| Постоянное употребление бутилированной воды | 0,40 | 0,16 - 1,02 |
| Периодическое употребление воды из колодца | 0,40 | 0,11 - 1,41 |
| Периодическое посещение бассейна | 0,29 | 0,04 - 2,30 |
| Периодическое посещение аквапарка | 0,61 | 0,13 - 2,80 |
| Периодическое посещение общественной бани | 0,69 | 0,19 - 3,68 |
| Туризм, миграция | | |
| Выезд за пределы РФ в течение 6 месяцев до заболевания | 1,03 | 0,36 - 2,96 |
| Выезд за пределы города проживания в течение 6 месяцев до заболевания | 1,27 | 0,54 - 2,96 |
| Наличие хронических заболеваний в анамнезе | | |
| Вирусный гепатит В или С | 2,12 | 0,63 - 7,05 |
| ВИЧ-инфекция | не выявлено случаев | - |
| Наличие заболеваний кожи в анамнезе | 23,04 | 2,29 - 231,33 |

ким дерматитом (89,5 на 100 пациентов) и псориазом (81,5 на 100 пациентов).

В настоящем исследовании были рассмотрены различные факторы риска, косвенно или непосредственно связанные с вероятными путями передачи, присущими фекально-оральному механизму передачи. В исследуемой выборке статистически значимых факторов риска, которые могли бы указывать на какой бы то ни было путь передачи как ведущий, установить не удалось, что, вероятно, отражает возможность участия в инвазировании разнообразных факторов передачи. Кроме того, нельзя исключить возможности того, что госпитализация пациентов, принявших участие в исследовании, была следствием обострения хронического течения заболевания, что могло увеличить экспозицию между действием изучаемых факторов риска и госпитализацией в инфекционный стационар и затруднить сбор анамнестической информации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая выявленную ассоциацию между заболеваниями кожи и бластоцистозом, представляется целесообразным и актуальным детальное изучение возможных причинно-следственных связей между этими состояниями в проспективных когортных исследованиях.

В то же время очевидно, что больные хроническими дерматозами могут рассматриваться как группа риска инвазирования патогенными бластоцистами и как потенциальный резервуар бластоцистной инвазии.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clin Microbiol Rev. 2008; 21: 639-665.
2. Boorom KF, Smith H, Nimri L et al. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. Parasit Vectors. 2008; 1: 40.
3. Zuel-Fakkar NM, Abdel Hameed DM, Hassanin OM. Study of Blastocystis hominis isolates in urticaria: a case-control study. Clin Exp Dermatol. 2011 Dec; 36(8): 908-910. doi: 10.1111/j.1365-2230.2011.04127.x. Epub 2011 Jul 25.
4. Hameed DM, Hassanin OM, Zuel-Fakkar NM. Association of Blastocystis hominis genetic subtypes with urticaria. Parasitol Res. 2011 Mar; 108(3): 553-560. doi: 10.1007/s00436-010-2097-2. Epub 2010 Oct 5.
5. Balint A, Doczi I, Bereczki L, Gyulai R, Szucs M, Farkas K, Urban E, Nagy F, Szepes Z, Wittmann T, Molnar T. Do not forget the stool examination!-cutaneous and gastrointestinal manifestations of Blastocystis sp. infection. Parasitol Res. 2014 Apr; 113(4): 1585-1590. doi: 10.1007/s00436-014-3805-0. Epub 2014 Feb 20.
6. Duda A, Kosik-Bogacka D, Lanocha-Arendarczyk N, Koiodziejczyk L, Lanocha A. The prevalence of Blastocystis hominis and other protozoan parasites in soldiers returning from peacekeeping missions. Am J Trop Med Hyg. 2015 Apr; 92(4): 805-806. doi: 10.4269/ajtmh.14-0344. Epub 2015 Mar 2.
7. Lee L, Chye T, Karmacharya B, Govind S. Blastocystis: waterborne zoonotic organism, a possibility? Parasit Vectors. 2012; 5: 130.
8. Parkar U, Traub R, Vitali S, Elliot A, Levecke B, Robertson I et al. Molecular characterization of Blastocystis isolates from zoo animals and their animal-keepers. Vet. Parasitol. 2010; 169: 8-17.
9. Leelayoova S, Siripattanapipong S, Thathaisong U, Naaglor T, Taamasri P, Piyaraj P et al. Drinking water: a possible source of Blastocystis spp. subtype 1 infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. Am J Trop Med Hyg. 2008; 79: 401-406.
10. Kurniawan A, Karyadi T, Dwintasari S, Sari I, Yunihastuti E, Djauzi S et al. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea in Jakarta, Indonesia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009; 103: 892-898.
11. Tan K. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clin Microbiol Rev. 2008; 21: 639-665.
12. Tan K, Mirza H, Teo J, Wu B, Macary P. Current views on the clinical relevance of Blastocystis spp. Curr Infect Dis Rep. 2010: 12: 28-35.
13. Sciluna, Tawari and Clark: DNA barcoding of Blastocystis.Protist. 2006 Feb; 157(1): 77-85. Epub 2006 Jan 23.
14. Souppart L, Sanciu G, Cian A, Wawrzyniak I, Delbac F, Capron M, Dei-Cas E, Boorom K, Delhaes L, Viscogliosi E. Molecular epidemiology of human Blastocystis isolates in France. Parasitol Res. 2009 Aug; 105(2): 413-21.
15. Balint A, Doczi I, Bereczki L, Gyulai R, Szucs M, Farkas K, Urban E, Nagy F, Szepes Z, Wittmann T, Molnar T. Do not forget the stool examination!-cutaneous and gastrointestinal manifestations of Blastocystis sp. infection. Parasitol Res. 2014 Apr; 113(4): 1585-1590. doi: 10.1007/s00436-014-3805-0.
16. Hameed DM, Hassanin OM, Zuel-Fakkar NM. Association of Blastocystis hominis genetic subtypes with urticarial. Epub 2014 Feb 20. Parasitol Res. 2011 Mar; 108(3): 553-560. doi: 10.1007/s00436-010-2097-2.
17. Potaturkina-Nesterova NI, Nesterov AS, Magomedov MA, Magomedova GM, Nemova IS, Lazorev AM, Kurzin AV. Intestinal inflammation effect on chronic dermatosis. Falk Symposium «Intestinal Disorders». Budapest (Hungary), 2-3 May 2008; 14: 26.


***Статья поступила в редакцию 18.08.2015 г.***

**Сухина М.А., Жуховицкий В.Г., Селькова Е.П.**
*Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих,*
*Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии*
*и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи,*
*Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского,*
*г. Москва*

# АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ

**Предмет исследования.** Облигатно анаэробные бактерии являются доминирующей микрофлорой человеческого тела. Достаточно часто они служат основной причиной возникновения заболевания или фактором, отягчающим его течение. Патология, вызванная анаэробными бактериями, нередко носит крайне тяжелый характер, сопровождаясь обширной гибелью тканей, токсикозом, органопатологией. Смешанный характер анаэробно-аэробной микрофлоры часто делает выбор антибактериальных препаратов трудной проблемой, при этом часто облигатно анаэробные бактерии устойчивы к действию многих антибактериальных препаратов.

**Цель исследования** – изучение резистентности к антибактериальным препаратам облигатно анаэробных бактерий в крови при клиническом диагнозе «сепсис(?)».
**Методы исследования.** Было изучено 2626 проб крови от пациентов реанимационного, хирургического и гематологического стационаров многопрофильной больницы.
**Основные результаты.** Изолировано 1528 культур аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных бактерий. Общая высеваемость составила 58,2 %. Из 1313 образцов крови, исследованных на анаэробную инфекцию, выделено 66 культур облигатно анаэробных микроорганизмов, высеваемость облигатных анаэробов составила 5 %. Оценка чувствительности изолированных облигатно анаэробных бактерий осуществлялась к 13 антибактериальным препаратам, наиболее часто применяемым в клинической практике для лечения анаэробной инфекции. Резистентными к антибактериальным препаратам, традиционно используемым в клинической практике для лечения анаэробной инфекции, оказались 32,6 % всех изолированных культур облигатно анаэробных бактерий. Резистентность к метронидазолу проявили 19,4 % штаммов облигатно анаэробных бактерий.
**Область их применения.** В 5 % случаев бактериемия, сопутствующая клиническому диагнозу «сепсис(?)», ассоциирована с облигатно анаэробными бактериями. Доминирующая роль принадлежит грамположительным облигатно анаэробным бактериям (79,6 %).
За последние несколько лет чувствительность облигатно анаэробных бактерий к антибактериальным препаратам существенно изменилась. Особое внимание заслуживает рост устойчивости анаэробов к наиболее часто используемым антибактериальным препаратам: метронидазолу, клиндамицину, имипенему, цефепиму.
**Заключение.** Высокие темпы роста резистентности облигатно анаэробных бактерий к обычно используемым антианаэробным препаратам определяют необходимость мониторинга резистентности анаэробов.

***Ключевые слова:*** *облигатно анаэробные бактерии; антибиотикорезистентность; антибактериальные препараты; бактериемия.*

**Sukhina M.A., Zhukhovitsky V.G., Selkova E.P.**
*State Research Center of Coloproctology names Ryzhikh A.N.,*
*Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology names Gabrichevskogo G.N.,*
*Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology names Gamalei N.F., Moscow*

**ANTIBIOTIC RESISTANCE OBLIGATELY ANAEROBIC BACTERIA ASSOCIATED WITH BACTEREMIA**

**Objective** – obligated anaerobic bacteria are the dominant microflora of the human body. Quite often, they are the primary cause of the disease or an aggravating factors. Pathology caused by anaerobic bacteria, often is very difficult behavior, followed by extensive destruction of tissue toxicity, organopathology. The mixed behavior of anaerobic-aerobic microflora often makes the choice of antimicrobials difficult problem, often obligated anaerobic bacteria is resistant to many antibiotics.
**Methods.** The purpose of this study was to evaluate antimicrobial resistance obligated anaerobic bacteria in the blood in the clinical diagnosis of «sepsis(?)». 2626 has been studied of blood samples from patients intensive care, surgical and hospital hematology multifield hospital.
**Results.** 1528 isolated cultures of aerobic, facultative anaerobic and obligate anaerobic bacteria. Total sowing ability was 58,2 %. Of 1313 blood samples tested for anaerobic infections isolated 66 cultures obligated anaerobes whereas obligated anaerobes sowing ability was 5 %. Evaluation of the sensitivity of isolated obligated anaerobic bacteria was carried out to 13 antimicrobial agents most commonly used in clinical practice for the treatment of anaerobic infections resistant to antibiotics traditionally used in clinical practice for the treatment of anaerobic infections, were 32,6 % of isolated cultures of obligated anaerobic bacteria. Resistance to metronidazole have shown 19,4 % of the strains of obligated anaerobic bacteria. In 5 % of cases of bacteremia along with clinical diagnosis of «sepsis(?)» is associated with obligated anaerobic bacteria. The dominant role is played by Gram-positive obligated anaerobic bacteria (79,6 %).
In the last few years the sensitivity of obligated anaerobic bacteria to antibiotics has changed considerably. Special attention must be given to the growth of anaerobes resistance to commonly used antimicrobial agents: metronidazole, clindamycin, imipenem, cefepime.
**Conclusions.** High growth rates of obligate anaerobic bacteria resistant to commonly used anti-anaerobic drugs determine the need for monitoring resistance of anaerobes.

***Key words:*** *obligate anaerobic bacteria; antibiotic resistance; antibacterial agents; bacteremia.*

По данным разных авторов, на долю анаэробных бактериемий приходится от 0,3 % до 11 % случаев выделения из гемокультуры облигатно анаэробных микроорганизмов [1-3]. Обязательным компонентом терапии анаэробной инфекции является проведение направленной и адекватной антибиотикотерапии, а идеальным условием, повышающим его эффективность, считается знание свойств возбудителя и его чувствительности к антибактериальным средствам. Достижение вышеуказанных условий в клинической практике зачастую не представляется возможным. Сложность выделения, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам облигатно анаэробных бактерий является ведущим фактором, ограничивающим микробиологический мониторинг анаэробной инфекции.

В мировой литературе в последние годы приводятся данные о росте антибиотикорезистентности микроорганизмов к часто используемым антианаэробным препаратам. Резистентность к метронидазолу среди грамположительных спорообразующих анаэробов рода Clostridium spp. достигает 36 %, среди грамположительных анаэробных кокков рода Peptostreptococcus – 12 % [4-6]. Опираясь на мировой опыт, к сожалению, приходится констатировать, что в медицинских учреждениях даже микробиологи мало уделяют внима-

**Корреспонденцию адресовать:**
СУХИНА Марина Алексеевна,
123423, г. Москва, ул. Саляма Адиля, д. 2.
Тел.: 8 (499) 199-84-44; +7-926-838-99-27.
E-mail: marinamari272015@gmail.com

ния изучению чувствительности облигатно анаэробных бактерий к антимикробным препаратам.

В клиниках России дело обстоит не лучше. Более того, если в США и Европе составлены и используются соответствующие распорядительные документы (стандарты), содержащие критерии чувствительности (устойчивости) некоторых облигатных анаэробов к антибиотикам, то в России до настоящего времени регламентирующие документы не приняты и, соответственно, не применяются. Такая ситуация вызывает озабоченность у медицинской общественности, так как облигатно анаэробные бактерии, являясь доминирующей микрофлорой человеческого тела, достаточно часто служат основной причиной возникновения заболевания или фактором, отягчающим его течение. Патологические состояния, обусловленные анаэробными бактериями, нередко носят крайне тяжелый характер, сопровождаясь обширной гибелью тканей, токсикозом, органопатологией. Смешанный характер анаэробно-аэробной микрофлоры преобладающий в последние годы среди возбудителей, затрудняет выбор антибактериальных препаратов. Кроме того, в последние годы проблема адекватной терапии таких состояний осложняется также тем, что анаэробные бактерии могут быть устойчивы к действию многих антибактериальных препаратов.

**Цель работы** – анализ резистентности к антибактериальным препаратам облигатно анаэробных бактерий в крови при клиническом диагнозе «сепсис(?)».

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовано 2626 проб крови от пациентов реанимационного, хирургического и гематологического стационаров ГКБ им. С.П. Боткина г. Москва. Образцы венозной крови 1313 больных с клиническим диагнозом «сепсис(?)» инкубировались одновременно в аэробных и анаэробных условиях на средах BD Bactec Aerobic Plus/F и BD Bactec Anaerobic Plus/F, соответственно, в режиме бактериологического анализатора «Bactec 9120». Материал гемокультур высевался на кровяной агар (Blood Agar с 5 % эритроцитов баранов); агар для выделения анаэробов (Anaerobic agar), и культивировался в анаэробных условиях при 37°С в течение 48 часов. Идентификация и оценка чувствительности (резистентности) к антибиотикам выполнялись с помощью бактериологического анализатора miniAPI с использованием тест-систем «rapid ID 32A», «API 20A», «ATB ANA». Исследование чувствительности анаэробных бактерий проводилось в соответствии с рекомендациями NCCLS/CLSI с определением МПК методом разведений в агаре (Бруцелла агар) с добавлением гемина (5 мкг/мл), витамина К1 (1 мкг/мл) и лизированной бараньей крови (итоговая концентрация – 5 %).

Все этапы исследования облигатно анаэробной микрофлоры осуществлялись в условиях анаэробной рабочей станции Bactron, позволяющей проводить все этапы исследования в условиях постоянного анаэробиоза – от первичного посева до идентификации и изучения антибиотикорезистентности, что исключает гибель анаэробных бактерий.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 2626 образцов крови выделено 1528 культур аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных бактерий. Общая высеваемость составляет 58,2 %. Из 1313 образцов крови исследованных на анаэробную инфекцию выделено 66 культур облигатно анаэробных микроорганизмов. Высеваемость облигатных анаэробов в нашем исследовании составила 5 %. Доступные методики фенотипической идентификации не позволили идентифицировать 17 культур ОАБ (25,7 % от общего их числа), материал 6-ти из которых (35,2 % от общего числа неидентифицированных культур) составляли грампозитивные палочки, 5-ти (29,4 %) – грампозитивные кокки, 5-ти (29,4 %) – грамнегативные палочки, одной (6 %) – грамнегативные кокки. Среди 49-ти идентифицированных культур ОАБ (74,3 %) ведущая роль (табл. 1) принадлежит грампозитивной облигатно анаэробной микрофлоре (79,6 %). На долю грамнегативных приходится 20,4 % (10). От общего числа ОАБ 21 культура (42,9 %) была отнесена к роду Clostridium и идентифицированы как C. perfringens (4 культуры), C. sphenoides (1), C. acetobutilicum (2), C. fallax (1), C. clostridioforme (1), C. histolyticum (3), C. tertium (2), C. parasputrificum (2), C. butiricum (3), C. novyi (1), C. sordellii (1). Прочие 18 культур грампозитивных ОАБ были идентифицированы как Eggerthella lenta (1), Eubacterium lentum (2), E. sabureum (2), Actinomyces naeslundii (1), Bifidobacterium breve (1), Propionebacterium avidum (1), Propionibacterium acnes (5), Peptostreptococcus anaerobius (1), Anaerococcus prevotii (1), Peptococcus niger (2), P. sacharolyticus (1). У 10 культур грамнегативных ОАБ (20,4 %) были идентифицированы Bacteroides fragilis (3), B. urealyticus (4), Veilonella spp. (3).

В 1997 г. внесены изменения в стандартные методы по определению чувствительности анаэробных бактерий. Выявленные тенденции роста антибиотикорезистентности возбудителей анаэробных инфекций позволили выработать основные показания к определению их чувствительности для мониторинга ло-

**Сведения об авторах:**

СУХИНА Марина Алексеевна, канд. биол. наук, руководитель отдела микробиологических и иммунологических исследований, ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, г. Москва, Россия. E-mail: marinamari272015@gmail.com

ЖУХОВИЦКИЙ Владимир Григорьевич, канд. мед. наук, зав. лабораторией микробиологии латентных инфекций, ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва, Россия.

СЕЛЬКОВА Евгения Петровна, доктор мед. наук, зам. директора по клинико-эпидемиологической работе, ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия.

**Таблица 1**
**Спектр облигатно анаэробных бактерий, ассоциированных с бактериемией**
**Table 1**
**Spectrum obligate anaerobic bacteria associated with bacteremia**

| Микроорганизм | | % выделения |
|---|---|---|
| Грампозитивные облигатно анаэробные бактерии | | 79,6 % (39) |
| Грампозитивные спорообразующие облигатно анаэробные бактерии 53,8% (21) | Clostridium tertium | 20 % |
| | Clostridium histoliticum | 15 |
| | Clostridium sordellii | 10 % |
| | Clostridium parasputrificum | 10 % |
| | Clostridium fallax | 10 |
| | Clostridium acetobutylicum | 10 |
| | Clostridium butyricum | 5 % |
| | Clostridium novyi | 5 % |
| | Clostridium clostridioforme | 5 |
| | Clostridium perfringens | 5 % |
| Грампозитивные неспорообразующие облигатно анаэробные бактерии 46,2% (18) | Propionibacterium spp | 35,3 % |
| | Eubacterium spp | 23,5 % |
| | Peptococcus spp | 11,7 % |
| | Eggerthella lenta | 5,9 % |
| | Actinomyces naeslundii | 5,5 % |
| | Bifidobacterium spp | 5,9 % |
| | Anaerococcus spp | 5,5 % |
| | Peptostreptococcus spp | 6,7 % |
| Грамнегативные облигатно анаэробные бактерии | | 20,4 % (10) |
| Грамнегативные облигатно анаэробные бактерии | Bacteroides spp | 70 % |
| | Veilonella spp | 30 % |

кальных и региональных тенденций резистентности. Это позволило более рационально проводить эмпирический выбор антибиотиков, выявлять резистентность к новым антибактериальным препаратам, а также оценивать возможность их использования в клинической практике.

Для оценки чувствительности изолированных облигатно анаэробных бактерий к антибактериальным препаратам в исследовании были использованы 13 антибактериальных препаратов, наиболее часто применяемых в клинической практике для лечения анаэробной инфекции. Спектр чувствительности изолированных облигатно анаэробных микроорганизмов к антибактериальным препаратам распределялся следующим образом (табл. 2).

Из общего числа всех изолированных облигатно анаэробных бактерий культур 32,6 % характеризовались как резистентные к традиционно используемым в клинической практике для лечения анаэробной инфекции. Большинство штаммов из этой группы микроорганизмов (62,5 %) сохраняли чувствительность к указанным антибактериальным препаратам, 4,9 % культур расценивались как микроорганизмы с промежуточной чувствительностью.

По нашим данным установлено, что наиболее эффективными антибактериальными препаратами с выраженной антибактериальной активностью в отношении облигатно анаэробных микроорганизмов являются пиперациллин/тазобактам, тикарциллин/клавуланат и имипенем (75 %). 19,4 % штаммов облигатно анаэробных бактерий были резистентны к метронидазолу. В исследовании выявлен рост резистентности среди анаэробов к антибактериальным препаратам. Резистентные штаммы облигатно анаэробных бактерий, ассоциированные с бактериемией, встречались с разной частотой: более 50 % по отношению к азитромицину (54,5 %), более 40 % — к аммоксициллину (42 %). Выявлен высокий процент резистентных культур анаэробов по отношению к пенициллинам (38,9 %), пиперациллину (30 %), амоксоциллину/клавуланату (35,5 %), тикарциллину (36,8 %), цефалоспоринам с антианаэробной активностью — цефотаксим (32,3 %), цефепиму (38,7 %), 1/4 всех изолированных анаэробов резистентна к действию имипенема. Более 1/3 штаммов (35,5 %) облигатно анаэробных бактерий резистентны к клиндамицину, 19,4 % культур резистентны к действию метронидазола, позиционируемому как основной антианаэробный препарат. Последние десятилетия все чаще регистрируются штаммы с устойчивостью к нитроимидазолам.

Выявленная тенденция приводит к выводу, что необходимо применять препараты, считавшиеся ранее средствами, обладающими безусловной антибактериальной активностью, с обязательным проведением тестирования антибиотикорезистентности облигатно анаэробных микроорганизмов к антианаэробным препаратам.

Облигатно анаэробные бактерии резистентны к азитромицину (54,5 %), амоксициллину (42 %). Одинаковая частота встречаемости резистентных штаммов анаэробов наблюдалась к пенициллинам (38,9 %), тикарциллину (36,8 %), цефепиму (38,7 %), цефотаксиму (32,3 %), реже в отношении к защищенным β-лактамным антибактериальным препаратам: амоксициллин/клавулановая кислота (35,5 %), тикарциллин/клавулановая кислота (20 %), к пиперациллин/тазобактаму (10 %). К имипенему были резистентны 25 % выделенных из гемокультуры облигатно анаэробных бактерий.

Обращает на себя внимание рост резистентных культур анаэробов к метронидазолу (19,4 %) и клиндамицину (35,5 %). Резистентность анаэробных мик-

**Information about authors:**
SUKHINA Marina Alekseevna, candidate of biological sciences, head of department microbiological and immunological studies, State Research Center of Coloproctology names Ryzhikh A.N., Moscow, Russia. E-mail: marinamari272015@gmail.com
ZHUKHOVITSKY Vladimir Grigoryevich, candidate of medical sciences, head of the laboratory of microbiology of latent infections, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology names Gamalei N.F., Moscow, Russia.
SELKOVA Evgenia Petrovna, doctor of medical sciences, deputy director for clinical and epidemiological work, Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Gabrichevsky G.N., Moscow, Russia.

**Таблица 2**
**Чувствительность к антибактериальным препаратам облигатно анаэробных бактерий, ассоциированных с бактериемией (в %)**
**Table 2**
**Sensitivity to antibiotics obligate anaerobic bacteria associated with bacteremia (in %)**

| Антибактериальные препараты (Antibacterial preparations) | Резистентные (Resistant) | Чувствительные (Sensitive) | Промежуточная чувствительность (Intermediate sensitivity) |
|---|---|---|---|
| Пенициллин G 0,5-2 мг/мл | 38,9 | 50,0 | 11,1 |
| Амоксициллин | 42,0 | 54,8 | 3,2 |
| Амоксициллин/клавуланат | 35,5 | 61,3 | 3,2 |
| Пиперациллин | 30,0 | 70,0 | 0 |
| Пиперациллин + тазобактам | 10,0 | 80,0 | 10,0 |
| Тикарциллин/клавуланат | 20,0 | 75,0 | 5,0 |
| Имипенем | 25,0 | 75,0 | 0 |
| Клиндамицин | **35,5** | 74,2 | 6,4 |
| Метронидазол | **19,4** | 74,2 | 6,4 |
| Цефотаксим | 32,3 | 61,3 | 0 |
| Цефепим | **38,7** | 63,2 | 0 |
| Тикарциллин | 36,8 | 63,2 | 0 |
| Азитромицин | 54,5 | 36,4 | 9,1 |
| ИТОГО: | **32,6** | **62,5** | **4,9** |

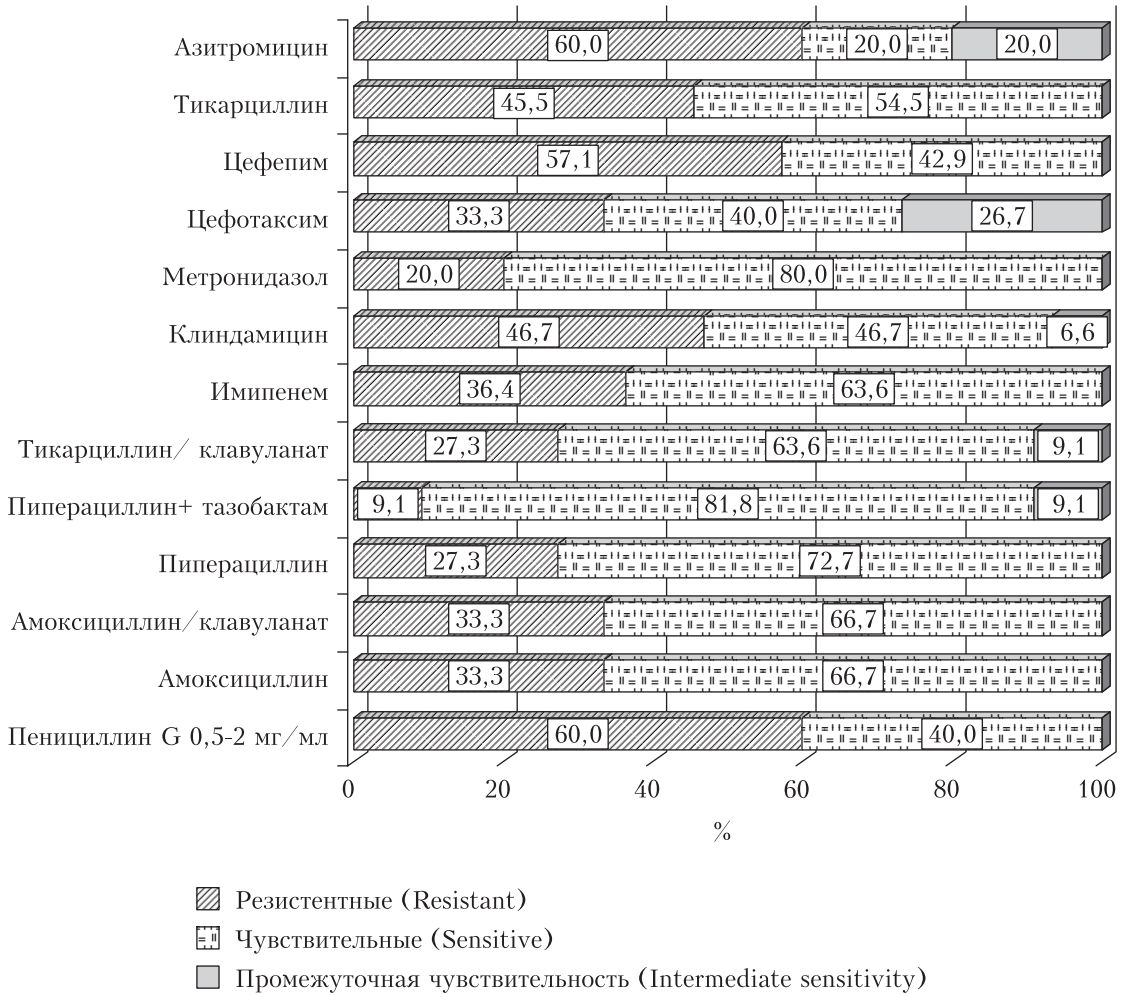
роорганизмов к нитроимидазолам – редкое явление. По данным исследований в США, не было зарегистрировано штаммов Bacteroides fragilis, резистентных к метронидазолу или орнидазолу (МПК > 16 мкг/мл). В Европе еще в 90-х годах прошлого столетия упоминалось о существовании единичных резистентных к метронидазолу штаммов грамнегативных облигатно анаэробных бактерий [6-8]. Известно, что устойчивость к метронидазолу более характерна для грамположительных анаэробов, включая большинство штаммов Propionibacterium acnes, Actinomyces spp., а также некоторые штаммы лактобактерий и анаэробных стрептококков [6, 9]. Спектр чувствительности к антибактериальным препаратам грампозитивных спорообразующих облигатно анаэробных бактерий рода Clostridium представлен на рисунке.

Более 70 % исследованных штаммов спорообразующих грампозитивных облигатно анаэробных бактерий рода Clostridium чувствительны к пиперациллину (72,7 %), пиперациллину/тазобактаму (81,8 %), метронидазолу (80 %). Резистентными к метронидазолу оказались 20 % штаммов Clostridium spp. Выявлена низкая активность антибактериальных препаратов по отношению к представителям рода Clostridium, которая наблюдалась у пенициллинов (40 %), цефалоспоринов (цефепима – 42,9 %) и макроли-

**Таблица 3**
**Спектр антибиотикочувствительности штаммов облигатно анаэробных неспорообразующих грампозитивных бактерий (Propionibacterium ssp., Eubacterium ssp., Bifidobacterium breve, Actinomyces naeslundii) (в %)**
**Table 3**
**Spectrum antibiotic susceptibility strains obligate anaerobic gram–positive bacteria nonsporeforming (Propionibacterium spp., Eubacterium ssp., Bifidobacterium breve, Actinomyces naeslundii) (in %)**

| Антибактериальные препараты (Antibacterial preparations) | Резистентные (Resistant) | Чувствительные (Sensitive) | Промежуточная чувствительность (Intermediate sensitivity) |
|---|---|---|---|
| Пенициллин G 0,5-2 мг/мл | 0 | 75 | 25 |
| Амоксициллин | 0 | 75 | 25 |
| Амоксициллин/клавуланат | 75 | 25 | 0 |
| Пиперациллин | 75 | 25 | 0 |
| Пиперациллин + тазобактам | 62,5 | 37,5 | 0 |
| Тикарциллин/клавуланат | 33,3 | 66,7 | 0 |
| Имипенем | 100 | 0 | 0 |
| Клиндамицин | 100 | 0 | 0 |
| Метронидазол | 100 | 0 | 0 |
| Цефотаксим | 25 | 75 | 0 |
| Цефепим | 62,5 | 37,5 | 0 |
| Тикарциллин | 57,1 | 42,9 | 0 |
| Азитромицин | 62,5 | 37,5 | 0 |
| ИТОГО: | **33,3** | **66,7** | **0** |

**Рисунок**
**Спектр чувствительности к антибактериальным препаратам штаммов в популяции облигатно-анаэробных бактерий рода Clostridium spp.**
**Figure**
**Spectrum sensitivity to antibiotics strains in the population of obligate anaerobic bacteria of the genus Clostridium spp.**




дов (азитромицина – 20 %). Более 50 % штаммов спорообразующих облигатно анаэробных бактерий резистентны к указанным антибактериальным препаратам.

Спектр антибиотикочувствительности неспорообразующих грампозитивных облигатных анаэробов представлен в таблице 3.

Все неспорообразующие грампозитивные облигатно анаэробные бактерии (Propionibacterium ssp., Eubacterium ssp., Bifidobacterium breve, Actinomyces naeslundii), ассоциированные с бактериемией, резистентны к пиперациллин/тазобактаму, тикарциллину с клавулановой кислотой, имипенему. Большинство представителей грампозитивных облигатно анаэробных бактерий резистентны к метронидазолу (62,5 %), основная масса среди них – представители рода Propionebacterium, имеющие природную резистентность к упомянутому препарату. Высокую устойчивость неспорообразующие грампозитивные облигатно анаэробные бактерии проявляли к цефалоспоринам (к цефепиму – 62,5 %). Природные пенициллины сохраняют активность в отношении неспорообразующих грампозитивных облигатно анаэробных бактерий (пенициллины – 75 % чувствительны).

Грамнегативные анаэробы сохраняли высокую чувствительность к антибактериальным препаратам (74,1 %), используемым в терапии анаэробной инфекции. Спектр чувствительности к антибактериальным препаратам представителей рода Bacteroides представлен в таблице 4.

Среди грамнегативных облигатно анаэробных бактерий, участвующих в развитии анаэробного сепсиса, не были выявлены культуры, резистентные к метронидазолу, 80 % из них чувствительны к упомянутому препарату, у 20 % штаммов Bacteroides spp. чувствительность к нитроимидазолам оценивалась как промежуточная. Среди Bacteroides fragilis доминировали штаммы, чувствительные к бензилпенициллину (81 %), ампициллину (92,1 %), цефотаксиму (60,5 %), тетрациклину (58 %).

**Таблица 4**
**Спектр чувствительности штаммов в популяции облигатно анаэробных грамнегативных бактерий (в %)**
**Table 4**
**Spectrum sensitivity of strains in the population of obligate anaerobic gram–negative bacteria (in %)**

| Антибактериальные препараты (Antibacterial preparations) | Резистентные (Resistant) | Чувствительные (Sensitive) | Промежуточная чувствительность (Intermediate sensitivity) |
|---|---|---|---|
| Пенициллин G 0,5-2 мг/мл | 25 | 75 | 0 |
| Амоксициллин | 20 | 60 | 20 |
| Амоксициллин/клавуланат | 20 | 60 | 20 |
| Пиперациллин | 25 | 75 | 0 |
| Пиперациллин + тазобактам | 25 | 75 | 0 |
| Тикарциллин/клавуланат | 25 | 75 | 0 |
| Имипенем | 25 | 75 | 0 |
| Клиндамицин | 20 | 80 | 0 |
| Метронидазол | 0 | 80 | 20 |
| Цефотаксим | 20 | 80 | 0 |
| Цефепим | 20 | 80 | 0 |
| Тикарциллин | 25 | 75 | 0 |
| Азитромицин | 25 | 75 | 0 |
| ИТОГО: | **20,7** | **74,1** | **5,2** |

Изолированные из гемокультуры штаммы Fusobacterium nucleatum были резистентны к бензилпенициллину (71,4 %), ампициллину (76,2 %), эритромицину (85,7 %), но обладали чувствительностью к левомицетину (61,9 %), клиндамицину (57,1 %), азитромицину (52,4 %), тетрациклину (52,4 %), цефокситину (61,9 %). Среди культур Veillonella parvula наблюдалась резистентность к ампициллину (88,8 %), тетрациклину (77,8 %), левомицетину (66,6 %), эритромицину (55,6 %), чувствительность к бензилпенициллину (66,6 %), цефокситину (88,8 %), цефотаксиму (77,8 %), азитромицину (55,6

Изолированные культуры грамположительных анаэробных кокков характеризовались высокой резистентностью к бензилпенициллину, ампициллину, тетрациклину, эритромицину и чувствительностью к азитромицину, клиндамицину. Штаммы Peptococcus niger были чувствительны к цефокситину (69,2 %), цефотаксиму (61,5 %). Штаммы Peptostreptococcus spp. были менее чувствительны к этим препаратам (38,5 % и 44,2 %, соответственно). Не было выделено штаммов Peptococcus niger, чувствительных к левомицетину, а представители рода Peptostreptococcus в 65,4 % случаев были чувствительны к данному препарату.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

5 % случаев бактериемии, сопутствующей клиническому диагнозу «сепсис», ассоциированы с облигатно анаэробными бактериями. Ведущая микрофлора представлена грампозитивными облигатно анаэробными бактериями (79,6 %). Поскольку антианаэробная терапия чаще всего проводится эмпирически, актуально понимание тенденции формирования резистентности клинических изолятов к антимикробным препаратам. За последние несколько лет существенно изменилась чувствительность облигатно анаэробных бактерий к антибактериальным препаратам. Обращает внимание рост устойчивости анаэробов к наиболее часто используемым антибактериальным препаратам: метронидазолу, клиндамицину, имипенему, цефепиму. Резистентностью к метронидазолу обладали 19,4 % культур, относящихся к родам Clostridium (20 %), Eubacterium spp (40 %), Propionebacterium spp. (100 %). Высокие темпы роста резистентности облигатно анаэробных бактерий к обычно используемым антианаэробным препаратам определяют необходимость мониторинга резистентности анаэробов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Egorkin MA. Modern approaches to treatment of acute anaerobic paraproctitis. Russian journal of gastroenterologie, Hepatology and Coloproctology. 2011; (3): 74-79. Russian (Егоркин М.А. Современные подходы к лечению острого анаэробного парапроктита //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2011. № 3. Р. 74-79.).
2. Kargaltseva NM, Kocherova VI, Ivanov AM. Polymicrobial ofblood cultures - current trends in etiology bloodstream infections. Practical medicine. 2012; 1(56): 56-61. Russian (Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Иванов А.М. Полимикробность гемокультур – современная тенденция в этиологии инфекции кровотока //Практическая медицина. 2012. № 1(56). С. 56-61.).
3. Chestnova TV, Seregina NV, Deshko IV. Comparative analysis of the microbial landscape of the pathogens isolated from the blood of febrile patients. Vestnik of new medical technologies. 2012; 19(2): 63-65. Russian (Честнова Т.В., Серегина Н.В., Дешко И.В. Сравнительные анализ микробного пейзажа возбудителей, выделенных из крови лихорадящих больных. //Вестник новых медицинских технологий. 2012. Т. 19, № 2. С. 63-65.).
4. Vandijck DM, Blot SI, Decruyenaere JM, Vanholder RC et al. Costs and length of stay associated with antimicrobial resistance in acute kidney injury patients with bloodstream infection. Acta Clin. Belg. 2008 Jan-Feb; 63(1): 31-38.

5. WHO: Global strategy for containment of antimicrobial resistance. Geneva: WHO; 2001. World Health Organization. (WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2) Available at: http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/ /drugresist/en/EGlobal_Strat.pdf (accessed 22.08.15)
6. Novak A, Rubic Z, Dogas V, Goic-Barisic I et al. Antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria in a University Hospital Centre Split, Croatia in 2013. Anaerobe. Elsevier. 2015; 31: 31-36.
7. Toprak Uger N., Sayin E., Dane F, Soyletir G. The first metronidazole-resistant Bacteroides species isolated at Marmara University Hospital: Bacteroides thetaiotaomicron. Mikrobiyol Bul. 2013; 47(4): 717-721.
8. Vasilevsky IV. Some solutions to the problem of antibiotic resistance at the present stage. Medicine (Minsk). 2008; 1: 92-97. Russian (Василевский И.В. Некоторые пути решения проблемы антибиотикорезистентности на современном этапе //Медицина (Минск). 2008. Т. 1. С. 92-97.).
9. Handal N., Jorgensen SB, Tunsjo HS, Johnsen BO, Leegaard TM. Anaerobic blood culture isolates in a Norwegian university hospital: identification by MALDI-TOF MS vs 16S rRNA sequencing and antimicrobial susceptibility profiles. APMIS. Denmark. 2015; 123(9): 749-758.

***Статья поступила в редакцию 20.10.2015 г.***

**Кутихин А.Г., Великанова Е.А., Глушкова Т.В., Ефимова О.С., Попова А.Н., Малышева В.Ю., Владимиров А.А., Созинов С.А., Руссаков Д.М., Гутаковский А.К., Живодков Ю.А., Демидов Е.А., Пельтек С.Е., Долганюк В.Ф., Бабич О.О., Фролов А.В., Мухамадияров Р.А., Долгов В.Ю., Григорьев Е.В., Брусина Е.Б., Барбараш О.Л.**

*НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,*
*Институт углехимии и химического материаловедения СО РАН,*
*Кемеровский государственный университет,*
*Кемеровский технологический институт пищевой промышленности,*
*Кемеровская государственная медицинская академия,*
*г. Кемерово*
*Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН,*
*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,*
*г. Новосибирск*

# СХОДСТВО МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК, И ИСКУССТВЕННО СИНТЕЗИРОВАННЫХ МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ

**Предмет исследования.** Минерало-органические наночастицы (МОНЧ), представляющие собой самореплицирующиеся кальций-фосфатные частицы ≤ 500 нм в диаметре, состоящие из углерода, азота, кислорода, водорода, кальция и фосфора и содержащие некоторые белки.
**Цель** – показать сходство или различия между МОНЧ, выделенными из кальцифицированных тканей (естественные МОНЧ), и искусственно синтезированными МОНЧ.
**Методы.** Выделение МОНЧ из атеросклеротических бляшек, искусственный синтез МОНЧ, декальцификация МОНЧ, электронная и атомно-силовая микроскопия, энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия, рентгеновская дифрактометрия, инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье, измерение распределения размерности МОНЧ методом динамического рассеяния света, электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, окрашивание нитратом серебра, иммуноблоттинг, окраска на нуклеиновые кислоты, флюоресцентная микроскопия, выделение липидов, газовая хроматография-масс-спектрометрия, анализ факторов формирования МОНЧ, анализ саморепликации МОНЧ, статистический анализ.
**Результаты.** Как естественные, так и искусственные МОНЧ представляют собой сферические частицы губчатой структуры с диаметром 100-500 нм. Оба типа МОНЧ состоят из углерода, кислорода, водорода, кальция и фосфора, которые формируют гидроксиапатит, карбонат-гидроксиапатит и кальцит. Распределение размерности естественных и искусственных МОНЧ также сходно, с разбросом диаметров 100-500 нм и средним диаметром около 200 нм. Естественные и искусственные МОНЧ обладают сходным белковым и липидным профилем и могут адсорбировать нуклеиновые кислоты. Соли кальция и фосфора ускоряют формирование МОНЧ, в то время как сыворотка, альбумин и фетуин-А являются ингибиторами этого процесса.
**Область применения.** Патофизиология, кардиология.
**Заключение.** МОНЧ, выделенные из атеросклеротических бляшек, и искусственно синтезированные МОНЧ сходны по морфологии, минеральному и органическому профилю, и законы их формирования соответствуют таковым для кальций-фосфатных бионов (КФБ). Поскольку факторы риска развития атеросклероза и факторы, способствующие формированию КФБ в крови человека схожи, это вызывает вопрос о возможной патогенности этих частиц.

***Ключевые слова:*** *минерало-органические наночастицы; бионы; патогенность; атеросклероз; кальцификация.*

**Kutikhin A.G., Velikanova E.A., Glushkova T.V., Efimova O.S., Popova A.N., Malysheva V.Yu., Vladimirov A.A., Sozinov S.A., Russakov D.M., Gutakovskiy A.K., Zhivodkov Yu.A., Demidov E.A., Peltek S.E., Dolganyuk V.F., Babich O.O., Frolov A.V., Mukhamadiyarov R.A., Dolgov V.Yu., Grigoriev E.V., Brusina E.B., Barbarash O.L.**

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases,*
*Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,*
*Kemerovo State University,*
*Kemerovo Technological Institute of Food Industry,*
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*
*Rzhanov Institute of Semiconductor Physics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,*
*Institute of Cytology and Genetics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk*

**MINERALO–ORGANIC NANOPARTICLES ARE SIMILAR WHEN ISOLATED FROM HUMAN ATHEROSCLEROTIC PLAQUES AND ARTIFICIALLY SYNTHESIZED**

**Study subject.** Mineralo-organic nanoparticles (MONPs) which are self-propagating calcium phosphate particles ≤ 500 nm in diameter consisting of carbon, nitrogen, oxygen, hydrogen, calcium, and phosphorus and containing certain proteins.

**Aim** – to demonstrate similarity or differences between the MONPs isolated from the calcified tissues (natural) and artificially synthesized MONPs.

**Methods.** Isolation of the MONPs from the atherosclerotic plaques, artificial synthesis of the MONPs, decalcification of the MONPs, electron and atomic force microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, X-ray diffraction analysis, Fourier transform infrared spectroscopy, dynamic light scattering measurements, sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, silver staining, Western blotting, nucleic acid staining, fluorescent microscopy, lipid extraction, gas chromatography-mass-spectrometry, dual inhibition-seeding assay, self-propagation assay, and statistical analysis.

**Results.** Both natural and artificial MONPs are 100-500 nm spherical particles with a sponge-like structure, and they consist of carbon, oxygen, hydrogen, calcium, and phosphorus which form hydroxylapatite, carbonate-hydroxylapatite, and calcite. A particle-size distribution of the natural and artificial MONPs is also similar, with a diameter range of 100-500 nm and mean diameter of around 200 nm. Both natural and artificial MONPs have similar proteomic and lipidomic profile and may adsorb nucleic acids. Calcium salts and phosphates enhance the seeding of the MONPs whilst serum, albumin, and fetuin-A are the inhibitors of this process.

**Field.** Pathophysiology, cardiology.

**Conclusions.** MONPs isolated from the atherosclerotic plaques and artificially synthesized MONPs have similar morphology, mineral, and organic profile, and the laws of their formation are similar to those for the calcium phosphate bions (CPB). Since the risk factors for atherosclerosis and the factors promoting the formation of the CPB in a human blood are similar, it raises a question about the pathogenicity of these particles.

***Key words:*** *mineralo-organic nanoparticles; bions; pathogenicity; atherosclerosis; calcification.*

Минерало-органические наночастицы (МОНЧ, нанобактерии, кальцифицирующиеся наночастицы, частицы, подобные нанобактериям, кальципротеиновые частицы, фетуино-минеральные комплексы, наноны, кальций-фосфатные бионы, минерало-окисленные липидные комплексы) были открыты в качестве контаминанта клеточных культур Kajander с соавт. более 25 лет назад, и их результаты были опубликованы несколькими годами позже [1]. Эти образования представляют собой самореплицирующиеся кальций-фосфатные частицы ≤ 500 нм в диаметре и могут быть визуализированы при помощи электронной или атомно-силовой микроскопии как сферические наночастицы, формирующие агрегаты и состоящие из углерода, азота, кислорода, водорода, кальция и фосфора [1]. Также было показано, что они содержат некоторые белки [2].

Природа МОНЧ в течение достаточно долгого времени оставалась неясной. Kajander и Ciftcioglu с соавт. [1] предположили, что нанобактерии являются наименьшим на Земле автономно реплицирующимся микроорганизмом, ответственным за развитие эктопической кальцификации. Однако эта гипотеза была оспорена двумя годами позже Cisar с соавт. [2], которые предположили, что данная биоминерализация может быть инициирована перенасыщением раствора солями кальция и фосфора или фосфатидилинозитолом. В 2003 году, Heiss с соавт. [3] показали, что антикальцифицирующий белок фетуин-А формирует временно растворимые коллоидные комплексы с кальцием и фосфатами, напоминающие нанобактерии. Аналогичное явление было также замечено Price с соавт. [4], которые идентифицировали и охарактеризовали формирование высокомолекулярного комплекса кальция, фосфатов и фетуина-А в сыворотке крыс, которым вводили этидронат.

В 2008 году Raoult с соавт. [5] убедительно опровергли гипотезу о нанобактериях как живых организмах, и показали ключевую роль фетуина в формировании данных минеральных комплексов, названных ими нанонами, по аналогии с прионами. Другой научной группе из Тайваня (Martel, Young, Wu, Wong с соавт.) [6] удалось успешно синтезировать семейство МОНЧ из различных солей и фосфатов, названное ими бионами. В соответствии с их гипотезой, бионы представляют собой неживые биомиметические МОНЧ и являются частью физиологического механизма, регулирующего функцию, транспорт и выведе-

**Корреспонденцию адресовать:**
КУТИХИН Антон Геннадьевич,
650025, г. Кемерово, ул. Дарвина, д. 2, кв. 9.
Тел.: +7-960-907-70-67.
E-mail: antonkutikhin@gmail.com

ние элементов и минералов [6]. Кальций-фосфатные бионы (КФБ) формируются в организме при избытке преципитирующих ионов или безуспешной работе механизма их выведения в биологических жидкостях [6]. Наконец, Kumon с соавт. [7] предположили, что МОНЧ представляют собой минерало-окисленные липидные комплексы, формирующиеся как побочный продукт хронического воспаления.

Группа из Тайваня [8] успешно продемонстрировала, что все данные образования сходны между собой при выделении из биологических жидкостей. В то же время, их также выделяли из кальцифицированных тканей, в особенности из артерий и клапанов сердца [9], однако не было попыток сравнить выделенные из них МОНЧ с искусственно синтезированными.

Данное исследование было проведено с **целью** установить сходство или различия между МОНЧ, выделенными из кальцифицированных тканей, и искусственно синтезированными МОНЧ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Выделение минерало-органических наночастиц из кальцифицированных атеросклеротических бляшек

Исследование было одобрено этическим комитетом НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово, Россия), все пациенты подписали протокол информированного согласия на участие в исследовании. Сегменты кальцифицированных атеросклеротических бляшек из аорты, сонной или бедренной артерии были получены в результате хирургического вмешательства. Ткань гомогенизировалась и центрифугировалась при 3,000 × g в течение 10 мин при 4°C (во всех экспериментах для низкоскоростного центрифугирования использовалась 5804R Centrifuge, Eppendorf). Далее надосадок фильтровался через целлюлозно-ацетатный фильтр (Mil-

**Сведения об авторах:**

КУТИХИН Антон Геннадьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия. E-mail: antonkutikhin@gmail.com

ВЕЛИКАНОВА Елена Анатольевна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН,г. Кемерово, Россия.

ГЛУШКОВА Татьяна Владимировна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБУ НИИ КПССЗ СО РАМН, г. Кемерово, Россия.

ЕФИМОВА Ольга Сергеевна, канд. хим. наук, науч. сотрудник, лаборатория высокотемпературных углеродных материалов, ФГБУН ИУХМ СО РАН, г. Кемерово, Россия.

ПОПОВА Анна Николаевна, канд. хим. наук, науч. сотрудник, лаборатория неорганических наноматериалов, ФГБУН ИУХМ СО РАН, г. Кемерово, Россия.

МАЛЫШЕВА Валентина Юрьевна, ведущий технолог, лаборатория высокотемпературных углеродных материалов, ФГБУН ИУХМ СО РАН, г. Кемерово, Россия.

ВЛАДИМИРОВ Александр Александрович, ведущий инженер, ФГБУН ИУХМ СО РАН, г. Кемерово, Россия.

СОЗИНОВ Сергей Анатольевич, канд. физ.-мат. наук, директор КемЦКП, ФГБУН ИУХМ СО РАН, г. Кемерово, Россия.

РУССАКОВ Дмитрий Михайлович, зав. лабораторией электронной микроскопии, кафедра экспериментальной физики, ФГБОУ ВПО КемГУ, г. Кемерово, Россия.

ГУТАКОВСКИЙ Антон Константинович, канд. физ.-мат. наук, ведущий науч. сотрудник, лаборатория нанодиагностики и нанолитографии отдела физики и технологии полупроводников пониженной размерности, микро- и наноструктур, ЦКП «Наноструктуры», ФГБУН ИФП СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

ЖИВОДКОВ Юрий Алексеевич, ведущий инженер-технолог, лаборатория нанодиагностики и нанолитографии отдела физики и технологии полупроводников пониженной размерности, микро- и наноструктур, ФГБУН ИФП СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

ДЕМИДОВ Евгений Александрович, ст. лаборант, лаборатория молекулярных биотехнологий отдела молекулярных биотехнологий отделения молекулярной генетики, клеточной биологии и биоинформатики, ФГБНУ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

ПЕЛЬТЕК Сергей Евгеньевич, доктор биол. наук, профессор, зам. директора по научной работе, ФГБНУ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

ДОЛГАНЮК Вячеслав Федорович, канд. техн. наук, мл. науч. сотрудник, НИИ биотехнологии, ФГБОУ ВО КемТИПП, г. Кемерово, Россия.

БАБИЧ Ольга Олеговна, доктор техн. наук, директор, НИИ биотехнологии, ФГБОУ ВО КемТИПП, г. Кемерово, Россия.

ФРОЛОВ Алексей Витальевич, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория нейрососудистой патологии отдела мультифокального атеросклероза, ФГБУ НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Россия.

МУХАМАДИЯРОВ Ринат Авхадиевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБУ НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Россия.

ДОЛГОВ Виктор Юрьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория новых биоматериалов отдела экспериментальной и клинической кардиологии, ФГБУ НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Россия.

ГРИГОРЬЕВ Евгений Валерьевич, доктор мед. наук, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе, ФГБУ НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Россия.

БРУСИНА Елена Борисовна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой эпидемиологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

БАРБАРАШ Ольга Леонидовна, доктор мед. наук, профессор, директор ФГБНУ НИИ КПССЗ, г. Кемерово, Россия.

lipore) с диаметром пор 0,22 μм. Наконец, 3 мл фильтрата добавлялись во флакон (T-25, Greiner), содержащий 7 мл культуральной среды (DMEM, 10 % фетальной бычьей сыворотки, 1 % раствор L-глутамина-пенициллина-стрептомицина и 0,4 % раствор амфотерицина B, Gibco).

Все процедуры осуществлялись в стерильных условиях. Все культивирование МОНЧ проводилось при 37°C, 5 % $CO_2$ и высокой влажности (MCO-18AIC, Sanyo). Длительность культивирования составила 6 недель. Культуральная среда с и без аналогичного количества фосфатно-солевого буфера (ФСБ, 1x, pH 7.4, Gibco), а также чистая DMEM использовались в качестве отрицательного контроля. Чтобы убедиться, что именно перенасыщение раствора солями кальция и фосфора является истинной причиной формирования МОНЧ, была осуществлена такая же процедура для тканей внутренней грудной артерии. После 6 недель культивирования культуральная среда центрифугировалась при 200,000 × g в течение 1 ч при 4°C (во всех экспериментах для высокоскоростного центрифугирования использовалась Optima MAX-XP Ultracentrifuge, Beckman Coulter). Осадок растворялся в стерильном ФСБ для экспериментов на клетках и животных или в стерильной $ddH_2O$ для изучения физико-химических свойств. Количество МОНЧ в растворе определялось измерением оптической плотности (ОП) на длине волны 650 нм в соответствии со стандартами МакФарланда (0,5, 1 и 2 McF с соответствующими значениями ОП 0,08-0,10; 0,14-0,17 и 0,27-0,31). Во всех экспериментах использовали микропланшетный ридер «Униплан» для измерения ОП.

**Information about authors:**

KUTIKHIN Anton Gennadievich, MD, Junior Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia. E-mail: antonkutikhin@gmail.com

VELIKANOVA Elena Anatolievna, PhD, Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

GLUSHKOVA Tatiana Vladimirovna, PhD, Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

EFIMOVA Olga Sergeevna, PhD, Researcher, Laboratory for High Temperature Carbon Materials, Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia.

POPOVA Anna Nikolaevna, PhD, Researcher, Laboratory for Inorganic Nanomaterials, Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia.

MALYSHEVA Valentina Yurievna, Leading Technologist, Laboratory for High Temperature Carbon Materials, Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia.

VLADIMIROV Alexandr Alexandrovich, Leading Engineer, Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia.

SOZINOV Sergei Anatolievich, PhD, Director of the Centre for Collective Use, Institute for Coal Chemistry and Material Sciences under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russia.

RUSSAKOV Dmitriy Mikhailovich, Head of the Laboratory for Electron Microscopy, Department of Experimental Physics, Physical Faculty, Kemerovo, Russia.

GUTAKOVSKIY Anton Konstantinovich, PhD, Leading Researcher, Laboratory for Nanodiagnostics and Nanolitography, Division of Physics and Technology of Low-Dimensional Semiconductors, Micro- and Nanostructures, Rzhanov Institute of Semiconductor Physics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

ZHIVODKOV Yuri Alekseevich, Leading Engineer, Laboratory for Nanodiagnostics and Nanolitography, Division of Physics and Technology of Low-Dimensional Semiconductors, Micro- and Nanostructures, Rzhanov Institute of Semiconductor Physics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

DEMIDOV Evgeniy Alexandrovich, Senior Technician, Laboratory for Molecular Biotechnology, Division of Molecular Biotechnology, Branch of Molecular Genetics, Cell Biology and Bioinformatics, Institute of Cytology and Genetics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

PELTEK Sergei Evgenievich, PhD, Professor, Deputy CEO for Research, Institute of Cytology and Genetics under the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

DOLGANYUK Viatcheslav Fedorovich, PhD, Junior Researcher, Research Institute of Biotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology, Kemerovo, Russia.

BABICH Olga Olegovna, PhD, CEO, Research Institute of Biotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology, Kemerovo, Russia.

FROLOV Alexey Vitalievich, MD, PhD, Junior Researcher, Laboratory for Neurovascular Pathology, Division of Polyvascular Disease, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

MUKHAMADIYAROV Rinat Avkhadievich, PhD, Senior Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

DOLGOV Viktor Yurievich, Junior Researcher, Laboratory for Novel Biomaterials, Division of Experimental and Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

GRIGORIEV Evgeniy Valerievich, MD, PhD, Professor, Deputy CEO for Research and Treatment, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

BRUSINA Elena Borisovna, MD, PhD, Professor, Head of the Department of Epidemiology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia.

BARBARASH Olga Leonidovna, MD, PhD, Professor, CEO, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

### Искусственный синтез минерало-органических наночастиц

Для искусственного синтеза МОНЧ готовили базовые растворы $CaCl_2$ (0,45M, Sigma-Aldrich) и $Na_2HPO_4$*$12H_2O$ (0,2M, Sigma-Aldrich) и далее разбавляли их до равных концентраций в 1 мМ во флаконе с 10 мл культуральной среды, инкубировали при аналогичных, описанных выше условиях, и осуществляли такие же процедуры после 6 недель культивирования.

### Декальцификация минерало-органических наночастиц

Для изучения того, существуют ли в природе декальцифицированные МОНЧ, центрифугировали раствор МОНЧ при 200,000 × g в течение 1 ч при 4°C и затем декальцифицировали осадок, используя либо 0,5M дигидрат динатриевой соли ЭДТА ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$*$2H_2O$, Sigma-Aldrich), перемешиваемый около суток при 4°C, либо 0,5H HCl (Sigma-Aldrich), перемешиваемую в течение 5 минут с последующей нейтрализацией равным объемом 0,5H NaOH (Sigma-Aldrich). После декальцификации растворы центрифугировались при 200,000 × g в течение 1 ч при 4°C, забирался надосадок, и предполагаемые декальцифицированные МОНЧ ресуспендировались в стерильной $ddH_2O$. Для некоторых экспериментов не центрифугировали МОНЧ после декальцификации.

### Электронная и атомно-силовая микроскопия

Визуализация МОНЧ проводилась методами просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и атомно-силовой микроскопии (АСМ). Для ПЭМ несколько капель раствора МОНЧ помещались на медную сеточку с углеродным напылением (Structure Probe, Inc.), образец окрашивался 2 % раствором уранилацетата (Electron Microscopy Sciences), и проводилась непосредственно ПЭМ (JEOL JEM-2100). Для СЭМ несколько капель раствора МОНЧ помещались на стекло для микроскопии (Thermo Scientific), высушивались при комнатной температуре (КТ) в течение суток, далее образец помещался на углеродный скотч (Ted Pella) и напылялся Au-Pd (SC7640, Emitech), и, наконец, проводилась непосредственно СЭМ (Zeiss CrossBeam 1540 XB, Carl Zeiss). Для АСМ несколько капель раствора МОНЧ помещались на диск из слюды (Ted Pella), и далее проводилась непосредственно АСМ (Cypher™ Atomic Force Microscope, Asylum Research).

### Элементный анализ

Для определения химических элементов, составляющих МОНЧ, помещали несколько капель раствора МОНЧ на углеродный скотч, высушивали в течение 2 ч при 37°C, напыляли углеродом (CA7625, Emitech) и проводили элементный анализ методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (XFlash® 4010, Bruker). Для каждого образца определялись три квадранта с четко визуализируемыми МОНЧ, и затем рассчитывался средний атомный процент для каждого элемента. Все расчеты проводились с поправкой на углерод во избежание систематической ошибки.

### Рентгеновская дифрактометрия

Несколько капель раствора МОНЧ помещались на стекло для микроскопии и высушивались в ламинарном боксе при КТ в течение суток. Спектры были получены с использованием рентгеновского дифрактометра (Bruker D8 ADVANCE, Bruker) с железной рентгеновской трубкой при 40 кВ. Данные собирались по 2θ углу от 10 до 100 градусов при скорости в 0,02 градуса в секунду. Полученные спектры сравнивались с базой Объединенного комитета порошковых дифракционных стандартов для идентификации химической формулы соединения.

### Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье

Несколько капель раствора МОНЧ использовались как образцы для Фурье-ИКС. Спектры были получены с использованием Фурье-ИК-спектрометра (Infralum FT-801, Simex) с разрешением 4 $см^{-1}$ на длинах волн от 4,000 $см^{-1}$ до 500 $см^{-1}$. Каждый спектр представляет собой среднее 25 последовательных сканов.

### Динамическое рассеяние света

Кривая распределения размерности МОНЧ в растворе рассчитывалась методом динамического рассеяния света с использованием Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Общий объем одного образца составил 1,5 мл, и для этого эксперимента пропускали $ddH_2O$ через 0,22-μм целлюлозно-ацетатный фильтр. До измерения образцы инкубировались при 25°C в течение 10 мин. Все измерения проводились трижды с дальнейшим расчетом среднего распределения.

### Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и окрашивание нитратом серебра

Для ДСН-ПААГ, аликвоты одинакового объема (30 μл) интактного раствора МОНЧ (0,5 McF), белкового экстракта интактного раствора МОНЧ, HCl- и ЭДТА-декальцифицированных МОНЧ были смешаны с буфером Лэммли (1,5 M Tris-HCl pH 6,8, глицерол, β-меркаптоэтанол, ДСН, 1 % бромфеноловый синий, дитиотреитол) в отношении 4 : 1 и затем загружены на 1,0 мм NuPAGE® Novex® 4-12 % Bis-Tris гель (Life Technologies). Белковый стандарт Precision Plus (Bio-Rad) загружался как маркер. Белки разделялись при помощи ДСН-ПААГ при 100 В в течение 1 ч. Гель окрашивался при помощи набора SilverQuest (Life Technologies) в соответствии с инструкциями производителя. Стоп-раствор (39 mM динатриевой соли ЭДТА) добавлялся при появлении полос. Гели фотографировались с использованием сканера HP Scanjet Enterprise Flow (Hewlett Packard).

### Иммуноблоттинг

Для иммуноблоттинга небольшое количество (10 µл) раствора МОНЧ (0,5 McF) смешивалось с буфером Лэммли в отношении 4 : 1 и загружалось на 1,0 мм NuPAGE® Novex® 4-12 % Bis-Tris гель. Экстракт белков нормальной печени человека использовался как положительный контроль. Белки разделялись ДСН-ПААГ при 100 В в течение 1 ч, перенос осуществлялся при 30 В в течение 1,5 ч при 4°С. Блоттинг проводился с антителами к фетуину-А (ab34505, Abcam) и альбумину (ab9092, Abcam). Конъюгированные с пероксидазой хрена кроличьи или козлиные вторичные антитела (Santa Cruz Biotechnology) использовались с разведением 1 : 500. Белки визуализировались хемилюминесценцией с использованием реагента для детекции Amersham ECL Prime (General Electric Healthcare).

### Окраска на нуклеиновые кислоты

Для детекции нуклеиновых кислот МОНЧ проводилась окраска Hoechst 33342. Несколько капель раствора МОНЧ помещались на стекло для микроскопии и высушивались в ламинарном боксе при КТ в течение 30 минут. Затем несколько капель красителя Hoechst 33342 (2 µг/мл, Sigma-Aldrich) помещались на высушенные МОНЧ, и осуществлялась инкубация при КТ в течение 20 мин. Визуализация проводилась посредством флюоресцентной микроскопии [AxioObserver.Z1 Inverted Microscope, Carl Zeiss; Zeiss Filter Set #49 (ex. G 365 нм, FT 395, em. BP 445/50 нм)].

### Выделение липидов и газовая хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС)

Липиды выделялись из МОНЧ по методу Фолча с использованием традиционного протокола. ГХ-МС проводилась с использованием капиллярной колонки MDN-1 (твердосвязанный метилсиликон, 30 м × 0,25 мм, Sigma-Aldrich) и газового хромато-масс-спектрометра GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu) в соответствии со следующими параметрами: объем инжектора 1 µL, температура инжектора 200°С, деление потока 1 : 10, температура интерфейса 210°С, температура детектора 200°С, скорость потока газа-носителя (He) 0,8 мл/мин, температурная программа: 100°С в течение 2 мин, 5°/мин до 120°С, 20°/мин до 260°С, затем 260°С в течение 2 минут. Идентификация масс от 1,5 до 1,900 m/z.

### Анализ факторов формирования минерало-органических наночастиц

Для оценки законов формирования МОНЧ инкубировали базовые стерильные растворы $CaCl_2$ и $Na_2HPO_4$*$12H_2O$, разбавленные до равных концентраций в 0,2, 0,5, 1, 5 или 10 мМ в 1 мл DMEM с 1, 3, 5, 7, 10, 15 или 20 % фетальной бычьей сыворотки (ФБС). Для оценки того, как отношение концентрации солей кальция к концентрации солей фосфора влияет на формирование МОНЧ, инкубировали базовые стерильные растворы $CaCl_2$ и $Na_2HPO_4$*$12H_2O$, разбавленные до отношения 4 : 1, 2 : 1, 1 : 1, 1 : 2 или 1 : 4 мМ в 1 мл DMEM с 1, 3, 5, 7, 10, 15 или 20 % FBS. Инкубация проводилась в 1,66 мл пробирках (Eppendorf) при 4°С или в 24-луночных планшетах (Eppendorf) при 37°С, 5 % $CO_2$ и высокой влажности (MCO-18AIC, Sanyo). Все измерения проводились в дублях, и средние значения использовались для последующего анализа. Последовательные измерения ОП на длине волны 650 нм проводились сразу после раскапывания, на 1, 3, 7, 14, 28 и 42 день после инкубации.

### Анализ саморепликации минерало-органических наночастиц

Для определения способности МОНЧ к саморепликации разбавляли 300 л отфильтрованного гомогената кальцифицированной ткани или базовые стерильные растворы $CaCl_2$ и $Na_2HPO_4$*$12H_2O$ до равных концентраций в 1 мМ в 1 мл культуральной среды. Инкубация проводилась в 1,66 мл пробирках при 4°С или при 37°С, 5 % $CO_2$ и высокой влажности (MCO-18AIC, Sanyo). Все измерения проводились в дублях, и средние значения использовались для последующего анализа. Оценка способности к саморепликации проводилась последовательными измерениями ОП на длине волны 650 нм сразу после раскапывания, на 1, 3, 7, 14, 28 и 42 день после инкубации.

### Статистический анализ

Статистический анализ проводился при помощи программы MedCalc (MedCalc Software). Оценка нормальности распределения оценивалась по критерию д'Агостино-Пирсона. Данные представлялись с помощью медианы, межквартильного расстояния (25 и 75 процентили), среднего и доверительных интервалов (ДИ) для медианы и среднего. В зависимости от типа распределения, две независимые группы сравнивались по U-критерию Манна-Уитни или t-критерию Стьюдента. Значения с $P \leq 0.05$ признавались статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

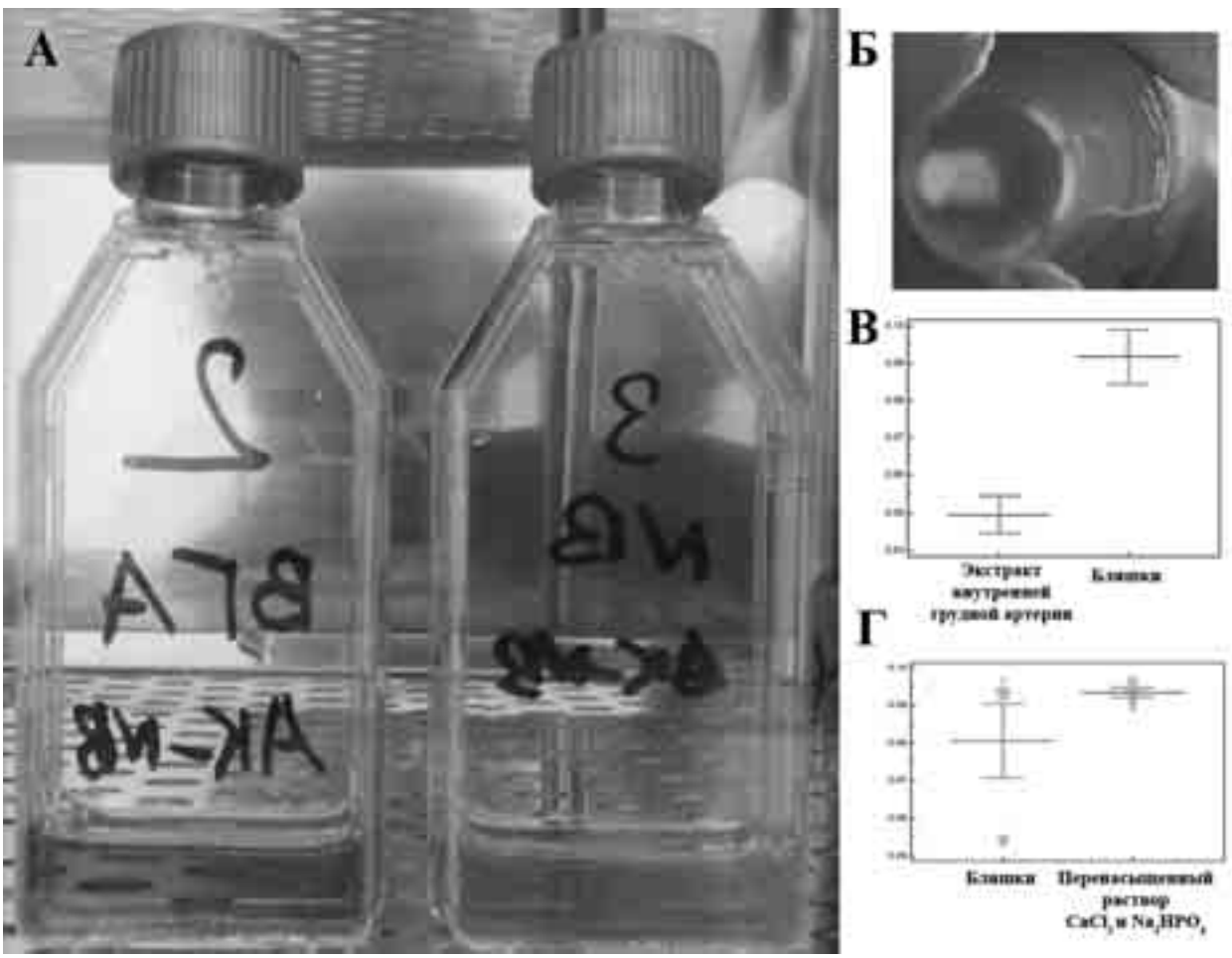
Нами было проведено культивирование естественных и искусственных МОНЧ путем добавления экстрактов атеросклеротических бляшек и перенасыщенных растворов $CaCl_2$ и $Na_2HPO_4$*$12H_2O$, соответственно, в различные флаконы с культуральной средой. Через шесть недель культивирования наблюдалось помутнение среды в этих флаконах (рис. 1А). На дне пробирок с этой средой наблюдался белый осадок (рис. 1Б). Измерение оптической плотности (ОП) подтвердило формирование определенных агрегатов в среде (рис. 1В). В то же время, ничего подобного не наблюдалось во флаконах или пробирках, куда был добавлен экстракт внутренней грудной артерии, а также в емкостях с контрольной средой (Рис. 1А и 1В). Более того, экстракты атеросклеротических бляшек пяти из шестнадцати пациентов не вызывали ни образования преципитатов, ни повышения ОП

**Рисунок 1**
**Культивирование МОНЧ**

А) Повышенная мутность культуральной среды была обнаружена во флаконах, в которые добавляли экстракты кальцифицированных атеросклеротических бляшек (справа); в то же время среда во флаконах, в которые добавляли экстракты из внутренней грудной артерии, оставалась чистой (слева);
Б) Белый осадок на дне пробирки, заполненной культуральной средой, содержащей экстракт кальцифицированной атеросклеротической бляшки;
В) Повышение оптической плотности подтверждает наличие определенных агрегатов в культуральной среде с экстрактами кальцифицированных атеросклеротических бляшек (справа), но не с экстрактами внутренней грудной артерии (слева);
Г) Добавление экстрактов атеросклеротических бляшек от пяти из шестнадцати пациентов к культуральной среде не приводило к увеличению оптической плотности (справа); в то же время, оптическая плотность всегда повышалась при добавлении перенасыщенных растворов $CaCl_2$ и $Na_2HPO_4*12H_2O$ (слева).

**Figure 1**
**Culture of the mineralo-organic nanoparticles (MONPs)**

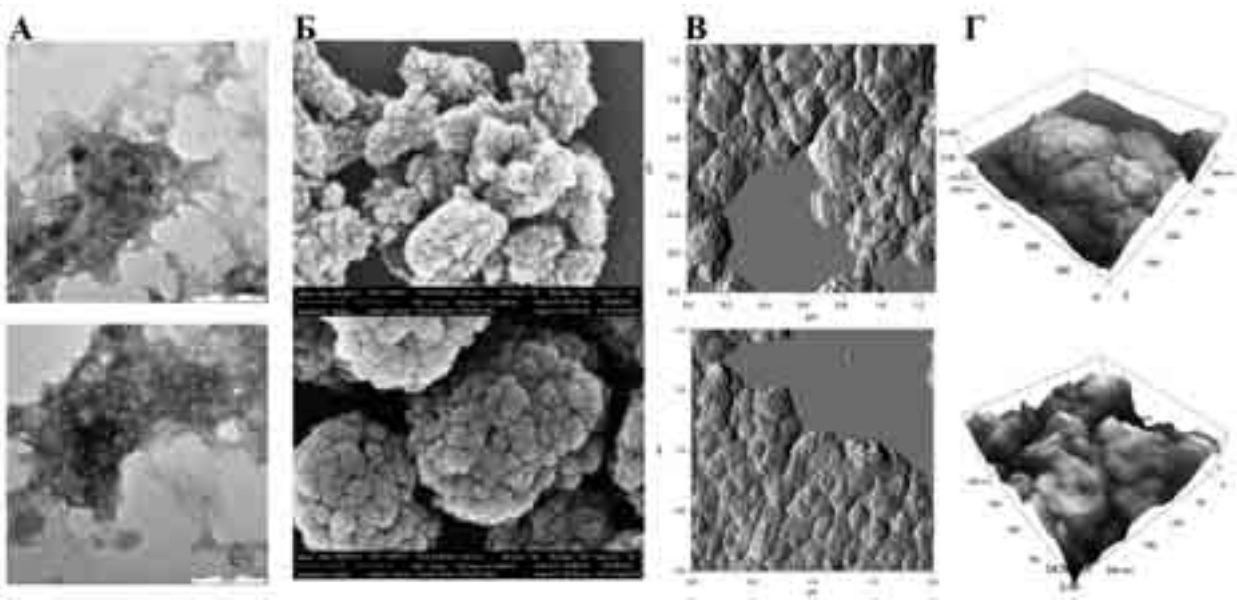
a) An increased turbidity of the culture medium could be observed in the flasks where the extracts of the calcified atherosclerotic plaques were added (right); however, the medium in the flasks where the extracts of internal mammary artery were added still remained clear (left);
b) A whitish precipitate could be found at the bottom of the tube filled with the culture medium containing the extract of the calcified atherosclerotic plaque;
c) An increase of the optical density confirms the presence of the certain aggregates in the culture medium with the extracts of the calcified atherosclerotic plaques (right) but not with the extracts of internal mammary artery (left);
d) Addition of the extracts of the atherosclerotic plaques from five out of sixteen patients to the culture medium did not lead to an increase of the optical density (right); however, optical density always increased when we added the supersaturated solutions of $CaCl_2$ and $Na_2HPO_4*12H_2O$ (left).




(рис. 1Г). Электронная и атомно-силовая микроскопия выявила, что данные агрегаты состоят из естественных или искусственных МОНЧ, которые представляют собой сферические частицы губчатой структуры с диаметром 100-500 нм (рис. 2), и что оба типа МОНЧ морфологически неотличимы друг от друга.

**Рисунок 2**
**Морфология естественных и искусственных МОНЧ**
А) Просвечивающая электронная микроскопия естественных (сверху) и искусственных (снизу) МОНЧ;
Б) Сканирующая электронная микроскопия естественных (сверху) и искусственных (снизу) МОНЧ;
В) Атомно-силовая микроскопия естественных (сверху) и искусственных (снизу) МОНЧ;
Г) Трехмерная атомно-силовая микроскопия естественных (сверху) и искусственных (снизу) МОНЧ;
Все данные изображения (a-d) подтверждают, что как естественные, так и искусственные МОНЧ представляют собой сферические частицы губчатой структуры диаметром 100-500 нм и морфологически неотличимы друг от друга.

**Figure 2**
**Morphology of the natural and artificial MONPs**
a) Transmission electron microscopy images of the natural (top) and artificial (bottom) mineralo-organic NPs;
b) Scanning electron microscopy images of the natural (top) and artificial (bottom) mineralo-organic NPs;
c) Atomic force microscopy images of the natural (top) and artificial (bottom) mineralo-organic NPs;
d) Three-dimensional atomic force microscopy images of the natural (top) and artificial (bottom) mineralo-organic NPs.
All these images (a-d) confirm that both these entities are 100-500 nm spherical particles with a sponge-like structure and are morphologically indistinguishable from each other.




Далее было исследовано, может ли декальцификация обнаружить «внутреннее ядро» МОНЧ. После декальцификации не удалось получить никакого осадка при центрифугировании, визуализировать какие-либо специфические структуры электронной микроскопией, а также выявить белки и специфические липиды электрофорезом в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ) и газовой хроматографией-масс-спектрометрией (ГХ-МС) вне зависимости от того, какой реагент был использован для декальцификации [HCl или дигидрат динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА)].

С целью сравнения минерального профиля естественных и искусственных МОНЧ были проведены элементный анализ, инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье (Фурье-ИКС) и рентгеновская дифрактометрия (РД). Все данные методики показали, что он схожий и как естественные, так и искусственные МОНЧ состоят из углерода, кислорода, водорода, кальция и фосфора, которые формируют гидроксиапатит [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], карбонат-гидроксиапатит [$Ca_{10}(PO_4)_3(CO_3)_3(OH)_2$] и кальцит ($CaCO_3$) (рис. 3А, 3Б, 3В). Метод динамического рассеяния света (ДРС) показал, что распределение размерности естественных и искусственных МОНЧ также сходно, с разбросом диаметров 100-500 нм и средним диаметром около 200 нм (рис. 3Г).

Далее был сравнен органический профиль естественных и искусственных МОНЧ. ДСН-ПААГ и окрашивание нитратом серебра показали, что они обладают сходным белковым профилем с, как минимум, тремя выраженными полосами (немногим более 25 кДа, 50-58 кДа и немногим более 65 кДа), которые могут соответствовать аполипопротеину А, фетуину-А и альбумину соответственно (рис. 4А). Декальцификация (без последующего центрифугирования) существенно снижала количество белков, однако полоса альбумина все равно была выражена (рис. 4Б). Эти результаты были подтверждены иммуноблоттингом для фетуина-А и альбумина (рис. 4В). Как естественные, так и искусственные МОНЧ успешно окрашивались Hoechst 33342 без какой-либо значимой аутофлюоресценции, что указывает на адсорбцию ими двуспиральной ДНК (рис. 4Г). В отношении липидного профиля, определенного ГХ-МС, нам удалось выявить определенные незначительные различия между естественными и искусственными МОНЧ (рис. 4Д).

**Рисунок 3**

**Минеральный профиль и распределение размерности естественных и искусственных МОНЧ**

А) Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия как естественных (слева), так и искусственных (справа) МОНЧ показывает, что они состоят как минимум из кислорода, кальция и фосфора (углерод убран вследствие поправки на углерод); Б) Инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье показывает специфические для фосфатных групп пики (550-600 $cm^{-1}$) при анализе как естественных (красный), так и искусственных (зеленый) МОНЧ; остальные пики вследствие $ddH_2O$; В) Метод динамического рассеяния света показывает, что как естественные (красный), так и искусственные (зеленый) МОНЧ обладают сходным распределением размерности, с разбросом диаметров 100-500 нм и средним диаметром около 200 нм; Г) Рентгеновская дифрактометрия показывает, что как естественные (серый), так и искусственные (розовый) МОНЧ состоят из гидроксиапатита $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, карбонат-гидроксиапатита $[Ca_{10}(PO_4)_3(CO_3)_3(OH)_2]$ и кальцита ($CaCO_3$); пики корунда присутствуют вследствие подложки, на которой были высушены МОНЧ.

**Figure 3**

**Mineral pattern and particle–size distribution of the natural and artificial MONPs**

a) Energy-dispersive X-ray spectroscopy of natural (left) and artificial (right) mineralo-organic NPs shows that they both consist at least of oxygen, calcium, and phosphorus (carbon cannot be seen here due to a carbon correction); b) Fourier transform infrared spectroscopy reveals the similar peaks specific for the phosphate groups (550-600 $cm^{-1}$) in both natural (red) and artificial (green) mineralo-organic NPs; other peaks are due to $ddH_2O$; c) Dynamic light scattering measurements demonstrates that both natural (red) and artificial (green) mineralo-organic NPs have a similar particle-size distribution curve, with a diameter range of 100-500 nm and mean diameter of around 200 nm; d) X-ray diffraction analysis identifies that both natural (gray) and artificial (pink) mineralo-organic NPs are composed of hydroxylapatite $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, carbonate-hydroxylapatite $[Ca_{10}(PO_4)_3(CO_3)_3(OH)_2]$, and calcite ($CaCO_3$); corundum peaks are due to the plate where the NPs were dried.

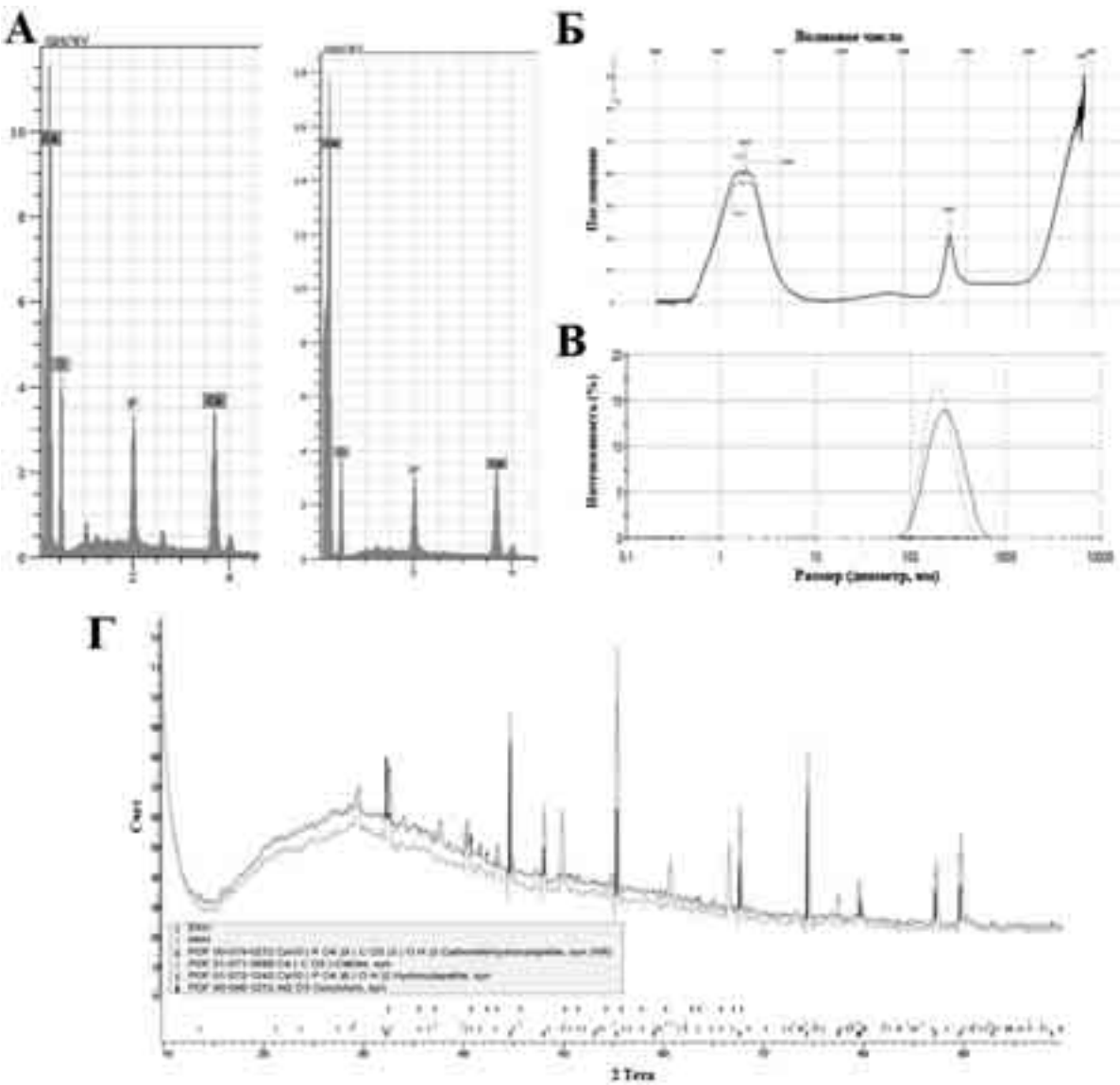
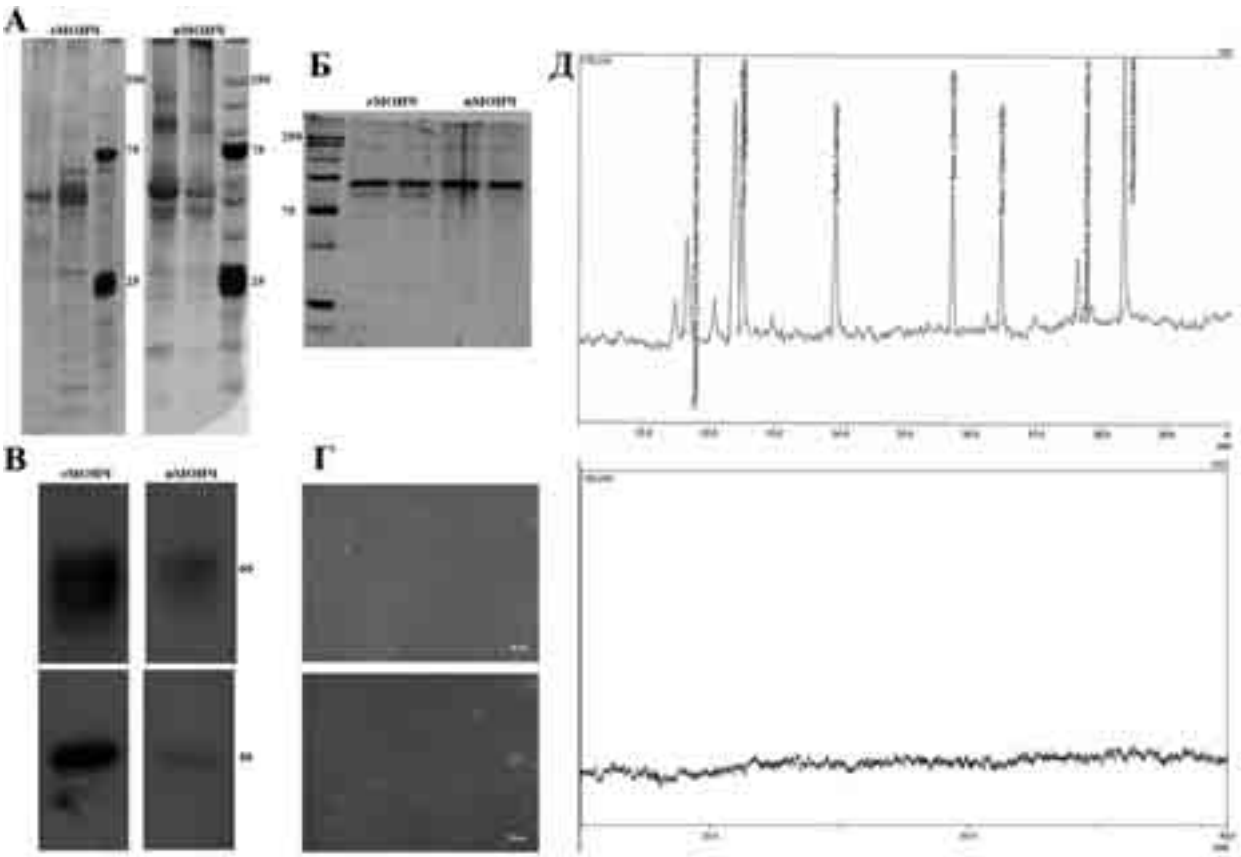


**Рисунок 4**
**Органический профиль естественных и искусственных МОНЧ**
А) Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия и окрашивание нитратом серебра показали, что как естественные (слева), так и искусственные (справа) МОНЧ обладают схожим белковым профилем с как минимум тремя выраженными полосами немногим более 25 кДа, 50-58 кДа и немногим более 65 кДа), которые могут соответствовать аполипопротеину А, фетуину-А и альбумину соответственно;
Б) Декальцификация (без последующего центрифугирования) значительно снижает количество белков как в естественных (слева), так и в искусственных (справа) МОНЧ;
В) Иммуноблоттинг подтвердил, что как естественные (слева), так и искусственные (справа) МОНЧ содержат фетуин-А (сверху) и альбумин (снизу);
Г) Окрашивание Hoechst 33342 обнаружило двуспиральную ДНК, адсорбированную как к естественным (сверху), так и к искусственным (снизу) МОНЧ, без какой-либо значительной аутофлюоресценции;
Д) Газовая хроматография-масс-спектрометрия выявила единичные остаточные липиды в естественных (сверху), но не в искусственных (снизу) МОНЧ.

**Figure 4**
**Organic pattern of the natural and artificial MONPs**
a) Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining show that both natural (left) and artificial (right) mineralo-organic NPs have a similar proteomic profile with at least three prominent bands of slightly more than 25 kDa, 50-58 kDa, and slightly more than 65 kDa which may correspond to apolipoprotein A, fetuin-A, and albumin, respectively;
b) Decalcification (without further centrifugation) significantly reduces the number of proteins in both natural (left) and artificial (right) mineralo-organic NPs;
c) Western blotting confirms that both natural (left) and artificial (right) mineralo-organic NPs contain fetuin A (top) and albumin (bottom);
d) Hoechst 33342 staining reveals double-stranded DNA adsorbed to both natural (top) and artificial (bottom) mineralo-organic NPs, without any significant autofluorescence;
e) Gas chromatography-mass spectrometry identifies a few residual lipids in natural (top) but not in artificial (bottom) mineralo-organic NPs.




С целью определения условий, определяющих формирование МОНЧ, повторили анализ, разработанный группой из Тайваня [6, 8]. Повышение концентрации солей кальция и фосфора существенно ускоряло этот процесс, независимо от концентрации фетальной бычьей сыворотки (ФБС), и можно было наблюдать значительный сдвиг ОП в растворе с 10 mM концентрацией солей кальция и фосфора, как в условиях культивирования клеток, так и при 4°C. Аналогично, снижение концентрации ФБС также ускоряло

формирование МОНЧ, независимо от концентрации солей кальция и фосфора, и это было особенно заметно при 1 % концентрации ФБС, как в условиях культивирования клеток, так и при 4°С. Отношение концентрации солей кальция к концентрации фосфатов не оказывало существенного влияния на формирование МОНЧ, независимо от концентрации ФБС. Температура также не являлась решающим фактором в этом процессе. Кроме того, нам удалось показать способность как естественных, так и искусственных МОНЧ к саморепликации.

Все наши эксперименты показали, что естественные и искусственные МОНЧ сходны друг с другом, и законы их формирования соответствуют таковым для кальций-фосфатных бионов (КФБ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Насколько нам известно, мы впервые сравнили МОНЧ, выделенные из кальцифицированных тканей, с искусственными МОНЧ. Ранее было показано, что МОНЧ, выделенные из ФБС, сходны с выделенными из сыворотки здоровых субъектов [8]. Мы показали, что МОНЧ, выделенные из кальцифицированных тканей, и искусственные МОНЧ морфологически и химически подобны. Хотя мы обнаружили определенные незначительные различия в липидном профиле, вероятно, что они вызваны остаточными липидами из экстракта атеросклеротической бляшки, поскольку при анализе искусственных МОНЧ липидных пиков выявлено не было. Кроме того, данный липидный профиль показывает, что эти остаточные липиды не играют серьезной биологической роли и едва ли могут вызывать существенные различия между естественными и искусственными МОНЧ.

Благодаря данным результатам мы можем уверенно сказать, что все МОНЧ аналогичны друг другу по морфологии, минеральному и органическому профилю, независимо от источника, из которого они были выделены. Это значительно облегчает функциональные эксперименты, поскольку возможно использовать искусственные МОНЧ, не требующие образцов тканей для выделения. В отдельных случаях, когда проблемно синтезировать искусственные МОНЧ, возможно их культивирование из экстрактов кальцифицированных тканей. Тем не менее, это было невозможно в случае с пятью из шестнадцати пациентов и с экстрактами внутренней грудной артерии, которая практически никогда не поражается атеросклерозом (известны лишь единичные случаи) [10]. Поэтому мы предположили, что именно перенасыщенный солями кальция и фосфора раствор привел к формированию МОНЧ. Более того, это показывает, что эти потенциально патогенные частицы могут образовываться в биологических жидкостях человека (кровь, моча) в результате их перенасыщения солями кальция и фосфора.

Мы подтвердили гипотезу Тайваньской группы [6, 8] о том, соли кальция и фосфора ускоряют формирование МОНЧ, в то время как сыворотка, альбумин и фетуин-А являются ингибиторами этого процесса. Мы не проводили такой анализ для альбумина и фетуина-А по отдельности, поскольку в любом случае проблематично проверить все сывороточные белки на их антикальцифицирующую функцию. В то же время, основываясь на наших результатах и предыдущих исследованиях, мы предполагаем, что именно антикальцифицирующие белки (альбумин, фетуин-А) ответственны за ингибиторный эффект сыворотки на формирование МОНЧ [6, 8]. Таким образом, именно отношение концентрации солей кальция и фосфора к концентрации сыворотки определяет формирование данных частиц. Другими словами, именно гиперкальциемия и гиперфосфатемия запускают этот процесс. Мы попытались определить, что играет здесь главную роль – соли кальция или соли фосфора, однако их отношение не оказывало существенного влияния на формирование МОНЧ, независимо от концентрации сыворотки.

Кроме того, наши эксперименты подтвердили способность как естественных, так и искусственных МОНЧ к саморепликации. Можно предположить, что измерение ОП не является адекватным методом для определения саморепликации, поскольку оно не позволяет отличить истинную саморепликацию от простой преципитации. Тем не менее, ранее методами инвертированной световой микроскопии и покадровой обработки изображений было показано, что МОНЧ способны к саморепликации в течение, как минимум, первых пяти дней культивирования и, возможно, еще, как минимум, 20 дней [11]. Тем не менее, саморепликация МОНЧ в любом случае ограничена их минимальным размером, и едва определяет их возможные патогенные эффекты.

Все свойства МОНЧ, которые нам удалось оценить, аналогичны тем, что были выявлены Wu, Young и соавт. [6, 8]. Стоит отметить, что ничего не удалось обнаружить при попытке осадить предполагаемые декальцифицированные МОНЧ. На основании этих результатов можно сделать вывод, что данные наночастицы являются не «кальцифицирующимися», как это было предположено раньше [12], а «кальций-фосфатными», или, чтобы быть более точными, КФБ.

Стоит отметить, что результаты клинических исследований показывают, что повышенный уровень кальция и фосфора в сыворотке ассоциирован с атеросклерозом и его клиническими проявлениями, такими как ишемическая болезнь сердца (ИБС), цереброваскулярные события и заболевания периферических артерий [13]. Кроме того, он коррелирует с развитием кальцификации клапанов сердца [14]. Клинические исследования [15] также показали, что сниженный уровень фетуина-А и альбумина в сыворотке ассоциирован с развитием ИБС и кальцификации клапанов сердца. Таким образом, повышенный уровень кальция и фосфора и сниженный уровень антикальцифицирующих белков в сыворотке является фактором риска развития атеросклероза и кальцификации клапанов сердца. Другими словами, факторы риска развития атеросклероза и кальцификации клапанов сердца аналогичны тем, что способствуют формированию КФБ в крови. Это указывает на их возмож-

ную патогенность и роль в сердечно-сосудистой кальцификации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МОНЧ, выделенные из кальцифицированных атеросклеротических бляшек, и искусственные МОНЧ морфологически и химически сходны друг с другом. Они представляют собой сферические частицы губчатой структуры 100-500 нм в диаметре и состоят из гидроксиапатита, карбонат-гидроксиапатита, кальцита и белков. Все их свойства и законы формирования соответствуют таковым для кальций-фосфатных бионов (КФБ), поэтому МОНЧ могут рассматриваться как КФБ. Аналогичность факторов риска развития атеросклероза и факторов, способствующих формированию КФБ в крови человека, указывает на возможную патогенность этих частиц.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES:


1. Kajander EO, Ciftcioglu N. Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998; 95(14): 8274-8279.
2. Cisar JO, Xu DQ, Thompson J, Swaim W, Hu L, Kopecko DJ. An alternative interpretation of nanobacteria-induced biomineralization. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000; 97(21): 11511-11515.
3. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grotzinger J, Yamamoto K, Renne T et al. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. J Biol Chem. 2003; 278(15): 13333-13341.
4. Price PA, Thomas GR, Pardini AW, Figueira WF, Caputo JM, Williamson MK. Discovery of a high molecular weight complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in the serum of etidronate-treated rats. J Biol Chem. 2002; 277(6): 3926-3934.
5. Raoult D, Drancourt M, Azza S, Nappez C, Guieu R, Rolain JM et al. Nanobacteria are mineralo fetuin complexes. PLoS Pathog. 2008; 4(2): e41.
6. Wu CY, Young L, Young D, Martel J, Young JD. Bions: a family of biomimetic mineralo-organic complexes derived from biological fluids. PloS One. 2013; 8(9): e75501.
7. Kumon H, Matsuura E, Nagaoka N, Yamamoto T, Uehara S, Araki M et al. Ectopic calcification: importance of common nanoparticle scaffolds containing oxidized acidic lipids. Nanomedicine. 2014; 10(2): 441-450.
8. Young JD, Martel J, Young D, Young A, Hung CM, Young L et al. Characterization of granulations of calcium and apatite in serum as pleomorphic mineralo-protein complexes and as precursors of putative nanobacteria. PloS One. 2009; 4(5): e5421.
9. Bertazzo S, Gentleman E, Cloyd KL, Chester AH, Yacoub MH, Stevens MM. Nano-analytical electron microscopy reveals fundamental insights into human cardiovascular tissue calcification. Nat Mater. 2013; 12(6): 576-583.
10. Otsuka F, Yahagi K, Sakakura K, Virmani R. Why is the mammary artery so special and what protects it from atherosclerosis? Ann Cardiothorac Surg. 2013; 2(4): 519-526.
11. Mathew G, Mckay DS, Ciftcioglu N. Do blood-borne calcifying nanoparticles self-propagate? Int J Nanomedicine. 2008; 3(2): 265-275.
12. Kajander EO. Nanobacteria-propagating calcifying nanoparticles. Lett Appl Microbiol. 2006; 42(6): 549-552.
13. Foley RN, Collins AJ, Ishani A, Kalra PA. Calcium-phosphate levels and cardiovascular disease in community-dwelling adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Am Heart J. 2008; 156(3): 556-563.
14. Linefsky JP, O'Brien KD, Katz R, de Boer IH, Barasch E, Jenny NS et al. Association of serum phosphate levels with aortic valve sclerosis and annular calcification: the cardiovascular health study. J Am Coll Cardiol. 2011; 58(3): 291-297.
15. Sun ZL, Xie QY, Guo GL, Ma K, Huang YY. Serum fetuin-A levels in patients with cardiovascular disease: a meta-analysis. Biomed Res Int. 2014; 2014: 691540.


***Статья поступила в редакцию 18.10.2015 г.***

**Печеник А.С., Шмакова М.А., Шатаев Г.Н., Перец О.В., Пекарская Е.В., Бобонец А.В., Турегалиев К.В.**
*Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово*

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Предмет исследования.** Научные публикации.
**Цель исследования** – получить информацию с более высоким уровнем доказательности об эффективности вакцинации против гриппа, как превентивной меры сердечно-сосудистых заболеваний, обосновать направление стратегии профилактики.
**Материалы и методы.** Проведен систематический обзор и мета-анализ научных публикаций, собранных в электронных архивах и различных базах данных: PubMed database, the Cochrane database of systematic reviews, Embase, clinical-

trials.gov и других ведущих научных журналах России и зарубежья, а также размещенных в научной электронной библиотеке e-library. Включены публикации: 6 когортных исследований и 10 – типа «случай-контроль» из 547 доступных научных работ, которые оценивали степень снижения рисков сердечно-сосудистых заболеваний у вакцинированных и не вакцинированных лиц против гриппа. Гетерогенность данных оценивалась с помощью Cochran Q и $I^2$ тестов. Мета-анализ проводили с использованием модели Мантела-Хензела для случайных и фиксированных эффектов. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

**Результаты.** Проведены два независимых мета-анализа: исследований типа «случай-контроль» и когортных. Установлена высокая степень гетерогенности исследований типа «случай-контроль» и более низкая – когортных. Рассчитаны обобщенные показатели отношения шансов для исследований «случай – контроль» – 1,01 (95% ДИ = 0,98-1,04; $\chi^2$ = 8,51; df = 9; p < 0,004), относительного риска – для когортных – 0,64 (95% ДИ = 0,57-0,72; $\chi^2$ = 18,93; df = 5; p < 0,0001), их достоверность.

**Выводы.** Систематический обзор и мета-анализ публикаций когортных исследований доказывают высокую эффективность вакцинации против гриппа как меры профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

***Ключевые слова:*** *вакцинация; грипп; профилактика сердечно-сосудистых заболеваний; мета-анализ.*

**Pechenik A.S., Shmakova M.A., Shataev G.N., Perets O.V., Pekarskaya E.V., Bobonez A.V., Turegaliev K.V.**
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*

**EVALUATION OF INFLUENZA VACCINE EFFECTIVENESS FOR THE PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES**

**Study subject.** Articles.

**Aim** – to find credible information about the efficacy of the vaccination against influenza as a preventive measure for cardiovascular diseases.

**Materials and methods.** Meta-analysis of the articles from the following databases: PubMed, the Cochrane Database of Systematic Reviews, Embase, and eLIBRARY. This meta-analysis included randomized controlled trials, cohort and case-control studies which assessed an association of the vaccination against influenza with the risk of cardiovascular diseases. We considered 547 scientific publications but only 10 case-control and 6 cohort studies were selected. Heterogeneity of data was evaluated using Cochran Q and $I^2$ tests. Meta-analysis was performed using a Mantel-Haenszel method, and we considered both random and fixed effects models.

**Results.** We carried out two independent meta-analyses for case-control and cohort studies. We observed a high heterogeneity among the case-control studies; however, it was lower among the cohort studies. Odds ratio for the case-control studies was 1,01 (95% CI = 0,98-1,04; p < 0,004) and 0,64 (95% CI = 0,57-0,72; p < 0,0001) for the cohort studies.

**Conclusion.** Meta-analysis of the cohort studies confirms a high efficiency of the vaccination against influenza for prevention of cardiovascular diseases.

***Key words:*** *vaccination; influenza; prevention of cardiovascular diseases; meta-analysis.*

Грипп – одно из наиболее распространенных инфекционных заболеваний в мире. Отдаленными последствиями и частыми осложнениями перенесенного гриппа являются заболевания сосудов и сердца. В то же время, совершенствование мер профилактики сердечно-сосудистых заболеваний считается задачей особой важности ввиду их повсеместного распространения, обусловленной ими летальности, экономических потерь и т.д. [3, 19, 25, 26].

Известно, что иммунопрофилактика инфекционных болезней позволяет существенно снизить заболеваемость населения, количество неблагоприятных клинических исходов, материальный ущерб [2, 12]. Ученые указывают на разной степени взаимосвязь между специфической профилактикой гриппа и снижением рисков развития сердечно-сосудистых заболеваний [1, 15, 13]. В некоторых странах вакцинацию против гриппа рекомендуют для пациентов с высоким риском осложнений, включая лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями [6, 8]. Вместе с тем, вопрос эффективности вакцинации против гриппа, как меры профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, требует более убедительных доказательств, поскольку в литературе встречаются противоречивые данные, полученные в результате независимых исследований.

Чтобы получить информацию об эффективности вакцинации против гриппа, как меры профилактики сердечно-сосудистых заболеваний с более высоким уровнем доказательности, обосновать направление стратегии профилактики, нами проведен мета-анализ научных публикаций.

Материалами исследования были научные публикации, представленные в различных базах данных (PubMed database, the Cochrane database of systematic reviews, Embase, clinicaltrials.gov) и других электронных архивах и ведущих научных журналах России и зарубежья, а также размещенных в научной электронной библиотеке elibrary.

Для поиска публикаций были использованы фильтры: Clinical Queries и временной (с 2000 по 2015 годы); ключевые слова и их различные сочетания: грипп, эффективность вакцинации против гриппа, взаимосвязь гриппа и сердечно-сосудистых заболеваний, профилактика сердечно-сосудистых заболеваний, вакцинопрофилактика гриппа, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт, перикардит, миокардит, эндокардит, артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность и другие.

Определены критерии включения публикаций: рандомизированные контролируемые клинические испытания, когортные и исследования типа «случай-контроль», которые оценивали степень снижения рисков

**Корреспонденцию адресовать:**
ПЕЧЕНИК Андрей Семенович,
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а.
Тел.: 8 (3842) 75-17-44; +7-904-577-53-81.
E-mail: pechenik74@mail.ru

развития сердечно-сосудистых заболеваний у вакцинированных и не вакцинированных лиц против гриппа. Научные публикации включались независимо от полученных результатов исследований. При наличии нескольких публикаций, посвященных разным этапам одного и того же исследования, включали последнюю работу.

Также определены критерии исключения, это: псевдорандомизация; повторяющиеся публикации в различных источниках; повторные исследования, выполненные с участием одной и той же группы больных; присутствие прямого вмешательства исследователей в ход исследования и наличие вмешивающихся факторов; а также статьи, которые содержали недостаточное количество расчетных данных;

Для расчетов, оформления, статистической обработки материалов нами использованы персональные компьютеры, оснащенные операционной системой Windows 8.1, прикладными программными продуктами фирмы Microsoft: Word, Excel, а также программами Review Manager (version 5.3.1) и WinPEPI (version 11.18).

Гетерогенность полученных данных оценивалась нами с помощью тестов на однородность отобранных исследований: Cochran Q и $I^2$ тест, который характеризует долю общей вариации в исследовании. Ввиду неоднородности исследований типа «случай-контроль» и, напротив, гомогенности когортных исследований, для проведения мета-анализа выбраны модели Ментела-Хензела для случайных и фиксированных эффектов. Предпочтение методу отдано, поскольку он позволяет оценить данные, представленные в четырехпольных таблицах, отношения шансов, проверять как общую степень значимости исследований, так и рассматривать каждое исследование как отдельную страту.

Проводились расчеты стандартного отклонения для натурального логарифма отношения шансов, отношения шансов для каждого отдельного исследования и 95% доверительных интервалов к ним. Рассчитан критерий хи-квадрат. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

В процессе поиска нами рассмотрены 547 научных публикаций по теме, 50 из которых соответствовали критериям включения. Затем, использовав критерии исключения, было отобрано 10 исследований типа «случай-контроль» и 6 — когортных.

Возможность объединения в рамках мета-анализа результатов когортных исследований и исследований «случай-контроль» по-прежнему представляет предмет дискуссий, а ценность данных, полученных в формате когортных исследований, как правило, выше. Поэтому для поиска истины решено провести два независимых мета-анализа: 10-ти исследований типа «случай-контроль» и 6-ти когортных, а затем — сравнить полученные результаты.

Достаточного для проведения мета-анализа количества публикаций результатов рандомизированных контролируемых клинических испытаний не найдено.

Отобранные результаты исследований типа «случай-контроль» опубликованы авторами из разных стран и посвящены взаимосвязи между вакцинопрофилактикой гриппа и рисками повторного возникновения острого инфаркта миокарда, инсульта, тромбоэмболий, сердечной недостаточности и т.д. [5, 7, 9, 14, 16, 17, 20-22, 27]. Полученные данные внесены нами в таблицы сопряженности для проведения дальнейших расчётов (табл. 1).

**Таблица 1**
**Результаты мета-анализа «Эффективность вакцинации против гриппа для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, исследований «случай-контроль»**
**Table 1**
**The results of the meta-analysis «The effectiveness of influenza vaccination for the prevention of cardiovascular disease, study «case-control»**

| Исследование | Опыт (n/N) | Контроль (n/N) | Вес, % | Отношение шансов 95% [ДИ] |
|---|---|---|---|---|
| Grau AJ, et al. [5] | 370/71 | 370/116 | 0,84 | 0,52 [0,37-0,73] |
| Zhu T, et al. [27] | 727/202 | 727/233 | 1,65 | 0,82 [0,65-1,02] |
| Macintyre CR, et al. [16] | 270/126 | 180/107 | 0,51 | 0,60 [0,41-0,87] |
| Naghavi M, et al. [17] | 275/92 | 284/184 | 0,63 | 0,27 [0,19-0,39] |
| Siscovick DS, et al. [22] | 109/51 | 109/77 | 0,25 | 0,37 [0,21-0,64] |
| Lavallee P, et al. [14] | 16012/8472 | 62694/32081 | 89,16 | 1,07 [1,04-1,11] |
| Heffelfinger JD, et al. [9] | 750/494 | 1735/1145 | 2,82 | 0,99 [0,83-1,19] |
| Gwini SM, et al. [7] | 556/235 | 556/290 | 1,26 | 0,67 [0,53-0,85] |
| Seo YB, et al.[20] | 828/279 | 828/324 | 1,88 | 0,79 [0,65-0,97] |
| Seo YB, et al.[21] | 342/86 | 549/216 | 1,01 | 0,52 [0,38-0,70] |
| Всего: | 20239/10108 | 68032/34774 | 100 | 1,03 [1,00-1,06] |

Примечание: n - мощность выборки; N - количество случаев в опытной и контрольной группах.
Note: n - the capacity of the sample; N - number of cases in experimental and control groups.

**Сведения об авторах:**
ПЕЧЕНИК Андрей Семенович, канд. мед. наук, доцент, кафедра эпидемиологии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: pechenik74@mail.ru
ШМАКОВА Мария Александровна, врач-интерн, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: mariya.shmakova.88@mail.ru
ШАТАЕВ Георгий Николаевич, врач-интерн, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: georgij-shataev@mail.ru
ПЕРЕЦ Олеся Владимировна, студентка, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: perets.olesya@mail.ru
ПЕКАРСКАЯ Екатерина Викторовна, врач-интерн ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия.
БОБОНЕЦ Анна Владимировна, врач-интерн ГБОУ ДПО НГИУВ Минздрава России, г. Новокузнецк, Россия. E-mail: bone4ka92@inbox.ru
ТУРЕГАЛИЕВ Кирилл Викторович, врач-интерн, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: kir_turegaliev@mail.ru

Установлено, что мощность исследований типа «случай-контроль» существенно отличалась, тест на гетерогенность составил: Q = 139,81 $I^2$ = 94 % (> 50 %) при df = 9; p = 0,00001, что позволяет сделать выводы о низкой степени гомогенности полученных данных.

В трёх исследованиях типа «случай-контроль», включенных в мета-анализ, верхняя граница 95% доверительных интервалов величины отношения шансов была выше единицы [9, 14, 27]. Однако в 7 исследованиях показатель отношения шансов, а также верхняя и нижняя границы 95% доверительных интервалов к нему, были достоверно ниже единицы [12, 14-16, 19-21]. Показатель суммарного отношения шансов, полученный в ходе расчетов мета-анализа по методу Ментела-Хензела, составил 1,01 (95% ДИ = [0,98-1,04]; $\chi^2$ = 8,51; df = 9; p <0,004), что предполагает отсутствие взаимосвязи между вакцинацией против гриппа и риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений (табл. 1).

Однако в семи отобранных исследованиях типа «случай-контроль» можно было проследить положительную взаимосвязь между вакцинацией пациентов против гриппа и снижением случаев его осложнений сердечно-сосудистыми заболеваниями. Результаты, полученные в рамках самого мощного исследования [9], где величина отношения шансов была чуть больше единицы (1,07; 95% ДИ = [1,04-1,11]), определили окончательный вывод о неэффективности вакцинации против гриппа как превентивной меры сердечно-сосудистых заболеваний.

Таким образом, в ходе мета-анализа публикаций исследований типа «случай-контроль» установлено отсутствие взаимосвязи между вакцинацией против гриппа и рисками возникновения сердечно-сосудистых заболеваний (OR = 1,03; 95% ДИ = [1,00-1,06]; $\chi^2$ = 8,51; df = 9; p < 0,004).

Вторым этапом следовала обработка нами данных когортных исследований. Известно, что данные, полученные в рамках когортных исследований, более информативны, а уровень их доказательности выше.

Отобранные для мета-анализа результаты шести когортных исследований были опубликованы с 2000 года по настоящее время и посвящены изучению взаимосвязи между вакцинацией против гриппа и снижением рисков повторного возникновения острого инфаркта миокарда, острой и хронической сердечной недостаточности и других сердечно-сосудистых заболеваний [4, 10, 11, 18, 23, 24,].

На втором этапе исследования нами были рассчитаны показатели: относительного риска для каждого когортного исследования, 95% доверительные интервалы к ним. Для оценки гетерогенности рассчитаны Cochran Q тест = 9,38 и $I^2$ тест = 47 % (< 50 %), выявлена сравнительная однородность отобранных когортных исследований.

Только в одном из шести когортных исследований, полученные данные не свидетельствовали в полной мере в пользу эффективности вакцинации для снижения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [24]. Установлено, обобщенный показатель относительного риска, полученный методом Ментела-Хензела для фиксированных эффектов, составил 0,64 (95% ДИ = [0,57-0,72]; $\chi^2$ = 18,93; df = 5; p < 0,0001) и был достоверно меньше единицы (табл. 2).

Модель случайных эффектов дала суммарный относительный риск, который составил 0,60 (95% ДИ = [0,49-0,73]; p <0,0001).

Таким образом, обобщенные показатели, полученные путём выполнения мета-анализа когортных исследований, продемонстрировали высокую эффективность вакцинации против гриппа для снижения риска сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений.

В ходе проведенного мета-анализа публикаций исследований типа «случай — контроль» и когортных получены противоположные результаты (рис.).

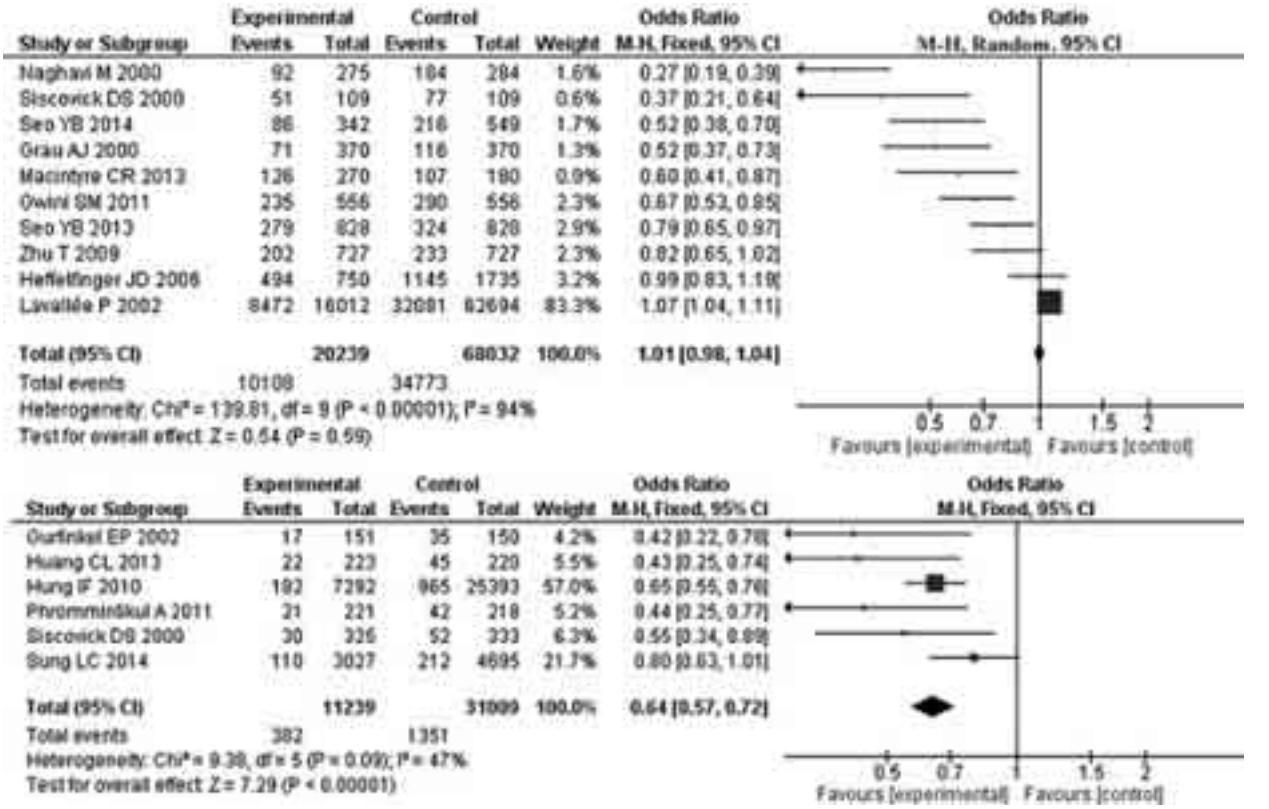
Известно, что исследования с малой мощностью могут переоценивать степень эффективности лечения и профилактики, а исследования с большей мощнос-

**Таблица 2**
**Результаты мета-анализа когортных исследований «Эффективность вакцинации против гриппа для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний»**
**Table 2**
**The results of the meta-analysis «The effectiveness of the influenza vaccination for the prevention cardiovascular diseases»**

| Исследование | Опыт (n/N) | Контроль (n/N) | Вес, % | Отношение шансов 95% [ДИ] |
|---|---|---|---|---|
| Gurfinkel EP, et al. [4] | 151/17 | 150/35 | 0,71 | 0,42 [0,22-0,78] |
| Siscovick DS, et al. [23] | 325/30 | 333/52 | 1,56 | 0,55 [0,34-0,89] |
| Huang CL, et al. [10] | 223/20 | 220/45 | 1,04 | 0,42 [0,26-0,79] |
| Hung IF, et al. [11] | 7292/182 | 25393/965 | 77,37 | 0,65 [0,55-0,76] |
| Sung LC, et al. [24] | 3027/110 | 4695/212 | 18,28 | 0,80 [0,63-1,01] |
| Phrommintikul A, et al. [18] | 221/21 | 218/42 | 1,04 | 0,44 [0,25-0,77] |
| Всего: | 11237/381 | 31007/1348 | 100 | 0,64 [0,57-0,72] |

**Information about authors:**
PECHENIK Andrey Semenovich, candidate of medical sciences, docent, department of epidemiology, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: pechenik74@mail.ru
SHMAKOVA Maria Aleksandrovna, doctor intern, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: mariya.shmakova.88@mail.ru
SHATAEV Georgy Nikolaevich, doctor intern, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: georgij-shataev@mail.ru
PERETS Olesya Vladimirovna, student, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: perets.olesya@mail.ru
PEKARSKAYA Ekaterina Viktorovna, doctor intern, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia.
BOBONETS Anna Vladimirovna, doctor intern, Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medical, Novokuznetsk, Russia. E-mail: bone4ka92@inbox.ru
TUREGALIEV Kirill Viktorovich, doctor intern, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: kir_turegaliev@mail.ru

**Рисунок**
**Сравнение двух независимых мета-анализов «случай-контроль» и когортных исследований**
**Figure**
**Comparison between two independent meta-analyses «case-control» and cohort studies**




тью менее подвержены статистическим ошибкам. Мощность включенных исследований — существенный фактор, способный повлиять на результаты мета-анализа. Однако нет четких критериев стандартизации количественных данных, при том что мощность исследований не должна играть ведущую роль в процессе их отбора для мета-анализа, а исключение крупных исследований будет ошибкой.

Таким образом, возможна дискуссия о целесообразности «выравнивания» мощности исследований с заменой «выскакивающих» величин расчетными.

Систематический обзор и мета-анализ публикаций когортных исследований доказывают высокую эффективность вакцинации против гриппа как меры профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (OR = 0,65; 95% ДИ = [0,58-0,73]; $\chi^2$ = 18,93; df = 5; p < 0,0001).

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Barnes M, Heywood AE, Mahimbo A, Rahman B, Newall AT, Macintyre CR. Acute myocardial infarction and influenza: a meta-analysis of case-control studies. Heart. 2015; doi: 10.1136/heartjnl – 2015-307691.
2. Briko NI. Vaccination is decisive measure to lower the burden of infectious diseases among adults. Epidemiology and infectious diseases. 2013; (4): 10-15. Russian (Брико Н.И. Вакцинация – решающая мера снижения бремени, связанного с инфекционными болезнями среди взрослых лиц //Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013. № 4. С. 10-15.
3. Davis MM, Taubert K, Benin AL, Brown DW, Mensah GA, Baddour LM et al. Influenza vaccination as secondary prevention for cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association. American College of Cardiology. Circulation. 2006; 114(14): 1549-1553.
4. Gurfinkel EP, de la Fuente RL, Mendiz O, Mautner B. Influenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study. Circulation. 2002; 105(18): 2143-2147.
5. Grau AJ, Fischer B, Barth C, Ling P, Lichy C, Buggle F. Influenza vaccination is associated with a reduced risk of stroke. Stroke. 2005; 36(7): 1501-1506.
6. Grohskopf L, Shay D, Shimabukuro T et al. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices – United States, 2013-2014. MMWR Recomm Rep. 2013; 62: 1-43.
7. Gwini SM, Coupland CA, Siriwardena AN. The effect of influenza vaccination on risk of acute myocardial infarction: self-controlled case-series study. Vaccine. 2011; 29(6): 1145-1149.
8. Hak E, Buskens E, Nichol KL, Verheij TJ. Do recommended high-risk adults benefit from a first influenza vaccination? Vaccine. 2006; 24(15): 2799-2802.
9. Heffelfinger JD, Heckbert SR, Psaty BM, Weiss NS, Thompson WW, Bridges CB et al. Influenza vaccination and risk of incident myocardial infarction. Hum Vaccin. 2006; 2(4): 161-166.

10. Huang CL, Nguyen PA, Kuo PL, Iqbal U, Hsu YH, Jian WS. Influenza vaccination and reduction in risk of ischemic heart disease among chronic obstructive pulmonary elderly. Comput Methods Programs Biomed. 2013; 111(2): 507-511.
11. Hung IF, Leung AY, Chu DW, Leung D, Cheung T, Chan CK et al. Prevention of acute myocardial infarction and stroke among elderly persons by dual pneumococcal and influenza vaccination: a prospective cohort study. Clin Infect Dis. 2010; 51(9): 1007-1016.
12. Kopel E, Klempfner R, Goldenberg J. Influenza vaccine and survival in acute heart failure. Eur J Heart Fail. 2014; 16(3): 264-270.
13. Kyncl J. Importance of vaccination against influenza in individuals with cardiovascular disease. Epidemiol Mikrobiol Immunol. 2014; 63(3): 245-248.
14. Lavallee P, Perchaud V, Gautier-Bertrand M, Grabli D, Amarenco P. Association between influenza vaccination and reduced risk of brain infarction. Stroke. 2002; 33(2): 513-518.
15. Ludwig A, Lucero-Obusan C, Schirmer P, Winston C, Holodniy M. Acute cardiac injury events ≤ 30 days after laboratory-confirmed influenza virus infection among U.S. veterans, 2010-2012. BMC Cardiovasc Disord. 2015; 15(1): 109.
16. Macintyre CR, Heywood AE, Kovoor P, Ridda I, Seale H, Tan T et al. Ischemic heart disease, influenza and influenza vaccination: a prospective case control study. Heart. 2013; 99(24): 1843-1848.
17. Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S, Naguib S, Madjid M, Casscells W. Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. Circulation. 2000; 102(25): 3039-3045.
18. Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. Eur Heart J. 2011; 32(14): 1730-1735.
19. Saltykova TS. The incidence of influenza and mortality of persons over 60 years. Cand. Med. Sci. abstracts dis. Moscow, 2010. 20 p. Russian (Салтыкова Т. С. Заболеваемость гриппом и отсроченная смертность лиц старше 60 лет: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. 20 с.)
20. Seo YB, Hong KW, Kim IS, Choi WS, Baek JH, Lee J et al. Effectiveness of the influenza vaccine at preventing hospitalization due to acute lower respiratory infection and exacerbation of chronic cardiopulmonary disease in Korea during 2010-2011. Vaccine. 2013; 31(10): 1426-1430.
21. Seo YB, Choi WS, Song JY, Cheong HJ, Kim WJ. Effectiveness of the influenza vaccine at preventing hospitalization due to acute exacerbation of cardiopulmonary disease in Korea from 2011 to 2012. Hum Vaccin Immunother. 2014; 10(2): 423-427.
22. Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, Weinmann S, Arbogast P, Lemaitre RN et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. Am J Epidemiol. 2000; 152(7): 674-677.
23. Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, Weinmann S, Arbogast P, Lemaitre RN et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. Am J Epidemiol. 2000; 152(7): 674-677.
24. Sung LC, Chen CI, Fang YA, Lai CH, Hsu YP, Cheng TH et al. Influenza vaccination reduces hospitalization for acute coronary syndrome in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease: a population-based cohort study. Vaccine. 2014; 32(30): 3843-3849.
25. Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, Keshtkar-Jahromi M, Gaughran F, Phrommintikul et al. Association between influenza vaccination and cardiovascular outcomes in high-risk patients: a meta-analysis. JAMA. 2013; 310(16): 1711-1720.
26. Warren-Gash C, Smeeth L, Hayward AC. Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2009; 9(10): 601-610.
27. Zhu T, Carcaillon L, Martinez I, Cambou JP, Kyndt X, Guillot K, et al. Association of influenza vaccination with reduced risk of venous thromboembolism. Thromb Haemost. 2009; 102(6): 1259-1264.

***Статья поступила в редакцию 9.09.2015 г.***

**Блох А.И.**
*Омский государственный медицинский университет, г. Омск*

# ЭТИОЛОГИЯ И ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ НЕМЕЛАНОМНЫХ РАКОВ КОЖИ И МЕЛАНОМЫ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы представлены этиология и факторы риска развития немеланомных раков кожи (базально- и сквамозноклеточного) и меланомы, занимающих первое ранговое место по инцидентности в России и в мире среди всех форм онкопатологии. К ведущим факторам риска развития раков кожи относятся ультрафиолетовое излучение (особенно с длиной волны 320-400 нм), уменьшение географической широты и увеличение высоты местности, первый или второй фототип кожи, солнечные ожоги в анамнезе, переменное воздействие солнечного излучения, посещение соляриев (особенно в юношеском возрасте), наличие атипичных родинок, высокий рост, возраст старше 65 лет, мужской пол, воздействие ионизирующего излучения, химические вещества (мышьяк и некоторые другие), генетические мутации.

***Ключевые слова:*** *рак кожи; меланома; этиология; факторы риска; эпидемиология.*

**Blokh A.I.**
*OmskStateMedicalUniversity, Omsk*

**ETIOLOGY AND RISK FACTORS FOR NONMELANOMA SKIN CANCERS AND MELANOMA: A REVIEW OF LITERATURE**

Etiology and risk factors for non-melanoma skin cancers (basal and squamous) and melanoma, which occupy the first place in the ranking of incidence among all forms of cancer pathology in Russia and worldwide, are presented in this literature review. The leading risk factors non-melanoma skin cancers include ultraviolet radiation (especially with a wavelength of 320-400 nm), reducing the latitude and increasing altitude, the first or second phototype of the skin, sunburns, history of alternating exposure to solar radiation, solarium use (especially in adolescence), atypical naevi, height, age over 65 years, male gender, exposure to ionizing radiation, chemicals (arsenic and others), genetic mutations.

***Key words:*** *skin cancer; melanoma; basal-cell carcinoma; squamous-cell carcinoma; risk factors; epidemiology.*

Группу раков кожи составляют достаточно разнородные виды, которые традиционно подразделяют на немеланомные раки (базальноклеточный исквамозноклеточный раки) и злокачественную меланому. По данным отечественных авторов [28, 43], в общей структуре онкопатологии рак кожи, в том числе меланома, занимает 1-е место для обоих полов, 2-е место – у женщин, уступая раку молочной железы, и 3-е место – у мужчин, уступая раку лёгкого и предстательной железы.

Плоскоклеточный рак кожи (синонимы: сквамозно-клеточная карцинома, плоскоклеточная эпителиома, эпидермоидный рак, спиноцеллюлярный рак, СКР) – злокачественная эпителиальная опухоль кожи и слизистых оболочек, развивающаяся из кератиноцитов. СКР имеет тенденцию к локальной инвазии. Метастазирование в среднем отмечается в 16 % случаев (от 2 % до 30 %). Пятилетняя выживаемость у больных СКР размером менее 2 см достигает 90 %, при больших размерах или прорастании в подлежащие ткани – не превышает 50 %. На долю СКР приходится порядка 10-20 % немеланомных раков кожи [17].

Базальноклеточный рак кожи или базальноклеточная карцинома (БКР) возникает из клеток базального слоя кожи и является наиболее распространённым видом злокачественных новообразований, поражающим лиц европеоидной расы в мире [6]. БКР имеет тенденцию к локальной инвазии, успешно лечится хирургическими методами (при условии своевременного выявления), но часто может рецидивировать. Метастазирование БКР отмечается в 0,00280-0,1 % случаев [37]. Кроме того, для БКР характерна относительно низкая летальность, но высокая заболеваемость ввиду частых рецидивов [6, 23]. На третьем году вероятность рецидива после радикального лечения составляет 27-44 %, а через пять лет – до 50 %. Множественность поражения также является негативным прогностическим фактором: при наличии более 10 очагов БКР существует 90 % вероятность появления ещё одного очага [6, 36]. Доля БКР среди немеланомных раков кожи составляет 70-80 % (по отечественным данным – 70-90 %) [49], а среди всех видов рака – около 30 % [35]. Выявлена умеренная тенденция к росту инцидентности БКР в мире в последние десятилетия ($T_{пр}$ = 4,0 %) [6].

**Корреспонденцию адресовать:**
БЛОХ Алексей Игоревич,
644050, г. Омск, ул. 2-я Поселковая, д. 26, кв. 85.
Тел.: +7-923-678-61-00.
E-mail: blokh_ai@mail.ru

Меланома составляет не более 4,0 % всех новообразований кожи, но на её долю приходится примерно 80 % случаев летальных исходов в онкодерматологии. В странах с преимущественно белым населением меланома входит в первую десятку наиболее социально значимых категорий опухолей, как в отношении заболеваемости, так и смертности. Заболеваемость меланомой колеблется от 1 до 55 случаев на 100 тысяч человек в год, в зависимости от географического расположения, поведенческих особенностей и расовой принадлежности изучаемой популяции. Индивидуальный риск данной патологии составляет примерно 2 %. Меланома характеризуется весьма агрессивным течением и резистентностью к стандартной цитостатической терапии, поэтому 5-летняя выживаемость больных с метастатическим процессом находится в пределах 10-15 % [29].

Стоимость лечения немеланомных раков кожи и меланомы в США в период 2002-2011 гг. выросла на 126,2 % (от 3,3 млрд. долларов до 8,1 млрд. долларов), в то время как лечение всех остальных форм онкопатологии стало дороже только на 25,1 % [5], что указывает на необходимость разработки специальных профилактических программ.

Воздействие ультрафиолетового излучения (УФ излучения) является ведущим причинным фактором развития немеланомных раков кожи и меланомы. Наиболее выраженное канцерогенное воздействие оказывает излучение с длиной волны 320-400 нм. Считается, что под действием УФ излучения происходит мутация гена-супрессора онкогенеза TP53 (инициация), за которой следует опухолевая трансформация клеток (промоция), возможная, в том числе, под действием УФ излучения. Этиологическая доля УФ излучения достигает 90 % случаев немеланомных раков кожи и 65 % случаев меланомы [2, 33].

Географическая широта и высота местности представляют собой опосредованную меру количества УФ излучения, падающего на землю, что отражается в увеличении инцидентности любых раков кожи при подъёме над уровнем моря и движении в сторону экватора (уменьшении географической широты) [6, 30, 39].

Люди, рождённые с февраля по апрель, имеют повышенный риск развития немеланомных раков вследствие неонатального воздействия УФ излучения [22], в то время как рождение в период с марта по май не-

сёт дополнительный риск развития меланомы, предположительно, по тем же причинам [7]. Однако, случаи заболевания раком кожи редки у детей, заболеваемость возрастает после 65 лет, а мужчины заболевают чаще женщин [42].

Наличие атипичных (с нечёткими границами; приподнятых над поверхностью кожи; крупного размера; пёстро окрашенных) родинок увеличивает риск развития меланомы в 4-10 раз [14, 31]. Наличие свыше 100 родинок повышает риск развития меланомы до 7 раз по сравнению с наличием не более 15 родинок, а каждая дополнительная родинка увеличивает риск на 2 % [31].

Отягощённый меланомой семейный анамнез практически удваивает риск развития этого заболевания (относительный риск (ОР) = 1,74; 95% доверительный интервал (ДИ) – 1,41-2,14), а этиологическая доля наследственности в развитии меланомы достигает 10 % [16].

Воздействие УФ излучения, в первую очередь, приходится на естественный барьер человеческого тела – кожу, реакция которой во многом зависит от её фототипа, которых по Т. Фитцпатрику [13] выделяют шесть:

- тип I – бледно-белая кожа; голубые или зелёные глаза; веснушки; кожа шелушится, всегда обгорает, загар практически не заметен;
- тип II – белая кожа; голубые или карие глаза; рыжие, светлые или каштановые волосы; кожа шелушится, легко обгорает, возможен лёгкий загар;
- тип III – белая кожа; карие глаза; тёмные волосы; кожа легко обгорает, но загар формируется хорошо;
- тип IV – белая кожа; кожа не обгорает, загар выраженный;
- тип V – коричневая кожа; кожа не обгорает, загар выраженный;
- тип VI – чёрная кожа; кожа не обгорает, загар выраженный.

Наиболее высокий риск развития, как немеланомных раков кожи, так и меланомы, имеют люди с первым и вторым фототипами кожи [13, 26]. Относительный риск развития меланомы для I и IV фототипов составляет 2,09 (95% ДИ 1,67-2,58) [16].

Наличие в анамнезе солнечных ожогов и переменного воздействия УФ излучения повышает риск развития немеланомных раков кожи (в большей степени БКР) и меланомы [15]. Частые солнечные ожоги (как в детстве, так и после достижения 18 лет) увеличивают риск развития меланомы более чем двукратно, а в группе с высоким уровнем переменного воздействия солнечного излучения риск развития меланомы на 60 % выше, чем в группе с наименьшим уровнем такого воздействия [9, 11, 20].

Дополнительный риск развития рака кожи несёт использование соляриев, получившее широкое распространение в мире. По данным систематического обзора Wehner M.R. et al. [48], доля лиц, посетивших солярий хотя бы 1 раз в жизни, составляет 35,7 % среди взрослых (95% ДИ 27,5-44,0 %), 55,0 % среди студентов (95% ДИ 33,0-77,1 %) и 19,3 % среди подростков (95% ДИ 14,7-24,0 %). Хотя бы 1 раз посетили солярий за предшествующий год 14,0 % взрослых (95% ДИ 11,5-16,5 %), 43,1 % студентов (95% ДИ 21,7-64,5 %) и 18,3 % подростков (95% ДИ 12,6-24,0 %). Атрибутивный риск развития немеланомного рака кожи составил от 3,0 % до 21,8 %. Однократное посещение солярия повышает риск развития меланомы (ОР = 1,15), а если первое посещение солярия было до возраста 35 лет, то относительный риск составляет 1,75, что соответствует этиологической доле 13,0 % и 42,9 %, соответственно [19]. Первое посещение солярия в юношеском и подростковом возрасте повышает риск раннего появления БКР (отношение шансов (ОШ) = 1,6; 95% ДИ – 1,3-2,1). Риск возрастает на 10 % со снижением возраста первого посещения на один год [21]. Данные о наличии градиента доза-эффект между использованием соляриев и риском развития рака кожи (особенно БКР) дополнительно подтверждают роль этого фактора [50].

В когортном исследовании Gerstenblith M.R. et al. [18] установили, что риск развития БКР возрастает с увеличением роста и снижается с увеличением массы тела человека. Похожие результаты получили Pothiawala S. et al. [34] у лиц, страдающих ожирением, однако авторы сочли увеличенный ИМТ суррогатным маркером недостатка хронического воздействия УФ излучения.

Профессиональный контакт с искусственным УФ излучением не несёт дополнительного риска развития рака кожи, а с естественным – оказывает протективное действие (более выраженное у лиц с первым и вторым фототипом кожи). Вместе с тем, дизайн исследования по типу «случай-контроль» ограничивает доказательность этих результатов [46].

Протективное действие оказывает употребление чая и кофе. По мнению авторов [12], такой эффект обусловлен преимущественно кофеином. При раннем развитии БКР употребление чая и кофе встречается реже, чем в популяции (ОШ = 0,6; 95% ДИ 0,38-0,96). Несмотря на дизайн исследования по типу «случай-контроль», наличие градиента доза-эффект говорит в пользу неслучайности представленных результатов.

Препараты, обладающие фотосенсибилизирующим эффектом, незначительно повышают риск развития как СКР (ОР = 1,2; 95% ДИ 1,0-1.4), так и БКР (ОР = 1,2; 95% ДИ 0,9-1,5) у лиц, хотя бы

**Сведения об авторах:**
БЛОХ Алексей Игоревич, ассистент, кафедра эпидемиологии, ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Information about authors:**
BLOKH Alexey Igorevich, assistant, department of epidemiology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

раз в жизни принимавших их. Кроме того, риск развития первично-множественного БКР при приёме фотосенсибилизирующих препаратов у лиц, часто получающих солнечные ожоги, был выше, чем у лиц, склонных к загару (ОР = 1,7; 95% ДИ 1,0-3,0 и ОР = 1,2; 95% ДИ 0,7-2,1, соответственно) [38]. Тиазидные и калий-сберегающие диуретики не влияют на риск развития БКР, в то время как петлевые диуретики его значительно повышают (ОР = 1,6; 95% ДИ 1,1-2,4), особенно при сочетании приёма петлевых диуретиков и фоточувствительного типа кожи [40].

Воздействие ионизирующего излучения считается вторым по значимости фактором риска развития раков кожи. Исследование с участием шахтёров, работавших на урановых рудниках, показало связь воздействия радона на кожу и инцидентности раков кожи в связи с проникновением альфа-частицы до базального слоя кожи [41]. Воздействие ионизирующего излучения также было изучено на лицах, выживших после атомной бомбардировки Хиросимы и Нагасаки. Полученные результаты говорят о наличии порога чувствительности кожи к воздействию ионизирующего излучения в 0,63 Гр. Выявлен значительный дополнительный относительный риск развития БКР при величине поглощённой дозы 1 Гр, составивший 0,74 (95% ДИ 0,26-1,6) для лиц, подвергшихся облучению в возрасте 30 лет. Риск развития БКР в зависимости от возраста, в котором люди подверглись облучению, составил 15,0; 5,7; 1,3 и 0,9 для возрастных групп 0-9 лет, 10-19 лет, 20-39 лет и 40 лет и старше, соответственно. Риск возрастал на 11 % при снижении возраста облучения на 1 год [44]. По данным другого исследования [47], проведенного на лицах, получавших в детском возрасте химио- и(или) радиотерапию по поводу онкологического заболевания и успешно от него излечившихся, величина поглощённой кожей дозы свыше 1 Гр связана с повышенным риском развития БКР. При сравнении лиц, получивших радиотерапию (поглощённая доза 35 Гр и выше), и лиц, не получивших радиотерапию, отношение шансов развития БКР составило 39,8 (95% ДИ 8,6-185,0).

Неорганический мышьяк в комбинации с УФ излучением значительно повышал риск развития БКР у женщин (ОР = 10,22; 95% ДИ 2,48-42,07) [45]. Другие исследования показывают наличие положительной статистически значимой связи между высоким содержанием неорганического мышьяка в питьевой воде и инцидентностью немеланомных раков кожи [4]. В части исследований обнаружена связь между относительно низкими концентрациями неорганического мышьяка в воде (менее 100 мкг/л) и инцидентностью БКР [3, 24].

Перечень химических веществ, которые считаются факторами риска развития немеланомных раков кожи и меланомы, так же включает каменноугольную смолу, пек, сажу, парафин, неочищенный керосин, креозот, минеральные масла, которые вызывают повреждение клеток кожи, ведущее к образованию очаговых пролифератов, переходящих в злокачественную опухоль [42].

Мутация гена-супрессора PTCH в локусах 9q22 (PTCH1) и 1p32 (PTCH2) обнаруживается у 30-75 % больных БКР [10, 27]. Мутация микросателлита D6S251, расположенного в регионе 6q14, отмечена у 60 % больных наследственными и спорадическими БКР [6]. Мутация в гене SMO обнаруживается у 10-21 % больных спорадическим БКР [6, 27]. Полиморфизмы в локусах 9p21, 7q32 (res157935 [T]), rs11170164 и генах, ответственных за репарацию ДНК (XPD, XRCC, XRCC 1, XRCC 3), чаще обнаруживаются у больных БКР, чем у здоровых людей [3, 30]. Полиморфизм гена VDR десятикратно повышает риск развития БКР, полиморфизмы гена MTHFR также статистически значимо повышают риск развития БКР [25]. При меланоме чаще всего (около 66 % случаев) мутирует ген BRAF (из них 80 % – вариант V599E) [8], однако возможно до 30000 замен оснований, 300 из которых приходятся на кодирующие белки последовательности [32]. Более длинные теломеры чаще встречаются у больных меланомой (ОШ = 3,75; 95% ДИ 2,02-6,94), в то время как для немеланомных раков кожи длинные теломеры – протективный фактор (для СКР и БКР отношение шансов составило 0,01 (95% ДИ 0,00-0,05) и 0,10 (95% ДИ 0,06-0,19), соответственно); несмотря на ограниченную доказательность результатов, полученных в исследовании по типу «случай-контроль», сильная связь между фактором и исходом, а также наличие градиента доза-эффект, говорит о неслучайности полученных результатов [1].

Несмотря на наличие ряда немодифицируемых факторов риска развития немеланомных раков кожи и меланомы (возраст старше 65 лет, высокий рост, месяц рождения, наличие атипичных родинок, отягощённый семейный анамнез и пр.), в т.ч. генетических (генетические мутации, длина теломер), консультирование и мероприятия по снижению воздействия ведущего причинного фактора (УФ излучения), такие как смена стиля одежды в пользу более «закрытой», использование солнцезащитных кремов, специальные санитарно-просветительные мероприятия и т.п., могут способствовать снижению заболеваемости как немеланомными раками кожи, так и меланомой, что соразмерно уменьшит затраты на лечение указанной патологии.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Anic GM, Sondak VK, Messina JL, Fenske NA, Zager JS, Cherpelis BS et al. Telomere length and risk of melanoma, squamous cell carcinoma, and basal cell carcinoma. Cancer Epidemiol. 2013; 37: 434-439.
2. Armstrong BK, Kricker A. How much melanoma is caused by sun exposure? Melanoma Res. 1993; (3): 395-401.
3. Baastrup R, Sшrensen V, Balstrшm T, Frederiksen K, Larsen CL, Tjшnneland A et al. Arsenic in Drinking-Water and Risk for Cancer in Denmark.Environ. Health Perspect. 2008; 116: 231-237.

4. Cabrera HN, Gymez ML. Skin cancer induced by arsenic in the water. J. Cutan. Med. Surg. 2003; 7: 106-111.
5. Centers for Disease Control and Prevention, author. Upswing in Skin Cancer Costs. JAMA. 2015; 313: 348.
6. Chinem VP, Miot HA. Epidemiology of basal cell carcinoma. An. Bras. Dermatol. 2011; 86: 46-50.
7. Crump C, Sundquist K, Sieh W, Winkleby MA, Sundquist J. Season of birth and other perinatal risk factors for melanoma. Int. J. Epidemiol. 2014; 43: 793-801.
8. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature. 2002; 417: 949-954.
9. Dennis LK, Vanbeek MJ, Beane Freeman LE, Smith BJ, Dawson DV, Coughlin JA. Sunburns and risk of cutaneous melanoma: does age matter? A comprehensive meta-analysis. Ann. Epidemiol. 2008; 18: 614-627.
10. Donovan J. Review of the hair follicle origin hypothesis for basal cell carcinoma. Dermatol. Surg. 2009; 35: 1311-1323.
11. Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. Int. J. Cancer. 1997; 73: 198-203.
12. Ferrucci LM, Cartmel B, Molinaro AM, Leffell DJ, Bale AE, Mayne ST. Tea, coffee, and caffeine and early-onset basal cell carcinoma in a case-control study. Eur. J. Cancer Prev. 2014; 23: 296-302.
13. Fitzpatrick T. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. Arch. Derm. 1988; 124: 869-871.
14. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. Eur. J. Cancer. 2005; 41: 28-44.
15. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. Eur. J. Cancer. 2005; 41: 45-60.
16. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. Eur. J. Cancer. 2005; 41: 2040-2059.
17. Gantsev AS Squamous cell cancer.Pract.Oncol. 2012; (2): 80-91.Russian (Ганцев А.С. Плоскоклеточный рак кожи //Практическая онкология. 2012. № 2. С. 80-91).
18. Gerstenblith MR, Rajaraman P, Khaykin E, Doody MM, Alexander BH, Line MS et al. Basal cell carcinoma and anthropometric factors in the U.S. Radiologic Technologists Cohort Study. Int. J. Cancer. 2012; 131: 1-16.
19. International Agency for Research on Cancer: Working group on artificial ultraviolet (UV) light and skin cancer, author. The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: A systematic review. Int. J. Cancer. 2007; 120: 1116-1122.
20. Karagas MR, Stukel TA, Morris JS, Tosteson TD, Weiss JE, Spencer SK. Skin cancer risk in relation to toenail arsenic concentrations in a U.S. population-based case-control study. Am. J. Epidemiol. 2001; 153: 559-565.
21. Karagas MR, Zens S, Li Z, Stukel TA, Perry AE, Gilbert-Diamond D, Sayarath V et al. Early-Onset Basal Cell Carcinoma and Indoor Tanning: A Population-Based Study. Pediatrics. 2014; 134: e4-e12.
22. La Rosa F, Liso A, Bianconi F, Duca E, Stracci F. Seasonal variation in the month of birth in patients with skin cancer. Br. J. Cancer. 2014; 111: 1810-1813.
23. Leiter U, Eigentler T, Garbe C. Epidemiology of skin cancer. Adv. Exp. Med. Biol. 2014; 810: 120-140.
24. Leonardi G, Vahter M, Clemens F, Goessler E, Gurzau E, Hemminki K. Inorganic Arsenic and Basal Cell Carcinoma in Areas of Hungary, Romania, and Slovakia: A Case-Control Study. Environ. Health Perspect. 2012; 120: 721-726.
25. Lesiak A, Norval M, Wodz-Naskiewicz K, Pawliczak R, Rogowski-Tylman M, Sysa-Jedrzejowska A et al. An enhanced risk of basal cell carcinoma is associated with particular polymorphisms in the VDR and MTHFR genes. Exp. Dermatol. 2011; 20: 800-804.
26. Lo JA, Fisher DE. The melanoma revolution: From UV carcinogenesis to a new era in therapeutics. Science. 2014; 346: 945-949.
27. Madan V, Hoban P, Strange RC, Fryer AA, Lear JT. Genetics and risk factors for basal cell carcinoma. Br. J. Dermatol. 2006; 154: 5-7.
28. Malignant neoplasms in Russia in 2012 (morbidity and mortality). Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV editors. Moscow: FGBU «P. Herzen Moscow oncology research institute» of Health Ministry, 2014. 250 p. Russian. (Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность) /под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. 250 с.).
29. Miller AJ, Mihm MCJr. Melanoma. N. Engl. J. Med. 2006; 355: 51-65.
30. Mseddi M, Marrekchi S, Abdelmaksoud W, Bouassida S, Meziou TJ, Boudaya S. Epidemio-clinical profile of skin cancer in southern Tunisia. Tunis Med. 2007; 85: 505-508.
31. Olsen CM, Carroll HJ, Whiteman DC. Estimating the attributable fraction for cancer: A meta-analysis of nevi and melanoma. Cancer Prev. Res. 2010; (3): 233-245.
32. Pimiento JM, Larkin EM, Smalley KSM, Wiersma GL, Monks NR, Fedorenko IV et al. Melanoma genotypes and phenotypes get personal. Laboratory Investigation. 2013; 93: 858-867.
33. Pleasance ED, Cheetham RK, Stephens PJ, McBride DJ, Humphray SJ, Greenman CD et al. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. Nature. 2010; 463: 191-196.
34. Pothiawala S, Qureshi AA, Li Y, Han J. Obesity and the incidence of skin cancer in US Caucasians.Cancer Causes Control. 2012; (5): 717-726.
35. Renaud-Vilmer C, Basset-Seguin N. Basal cell carcinomas. Rev. Prat. 2014; 64: 37-44.
36. Richmond-Sinclair NM, Pandeya N, Williams GM, Neale RE, van der Pols JC, Green AC. Clinical signs of photodamageare associated with basal cell carcinoma multiplicity and site: A 16-year longitudinal study. Int. J. Cancer. 2010; 127: 2622-2629.
37. Robimson JK, Dahiya M. Basal cell carcinoma with pulmonary and lymph node metastasis causing death.Arch. Dermatol. 2003; 139: 643-648.
38. Robinson SN, Zens MS, Perry AE, Spencer SK, Duell EJ, Karagas MR. Photosensitizing Agents and the Risk of Non-Melanoma Skin Cancer: A Population-Based Case-Control Study. J. Invest. Dermatol. 2013; 133: 1950-1955.
39. Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Kerl H. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. Br. J. Dermatol. 2007; 157: 47-51.
40. Ruiter R, Visser LE, Eijgelsheim M, Rodenburg EM, Hofman A, Coebergh JW et al. High-ceiling diuretics are associated with an increased risk of basal cell carcinoma in a population-based follow-up study. Eur. J. Cancer. 2010; 46: 2467-2472.
41. Sevcov6 M, Sevc J, Thomas J. Alpha irradiation of the skin and the possibility of late effects. Health Phys.1978; 35: 803-806.

42. Shlahtuniv EA, Gidranovich AV, Lud NG, Lud LN, Kozhar VL, Prokhin AV. Skin cancer: current state of the problem. VestnikVGMU; 2014 (3): 20-38. Russian (Шляхтунов Е.А., Гидранович А.В., Луд Н.Г., Луд Л.Н., Кожар В.Л., Прокшин А.В. Рак кожи: современное состояние проблемы //Вестник ВГМУ. 2014. № 3. С. 20-28).
43. Status of cancer care in Russia in 2013. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV, editors. Moscow: FGBU «P. Herzen Moscow oncology research institute» of Health Ministry. 2014. 231 p. Russian (Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году /под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. 231 с.).
44. Sugiyama H, Misumi M, Kishikawa M, Iseki M, Yonehara S, Hayashi T et al. Skin cancer incidence among atomic bomb survivors from 1958 to 1996. Radiat. Res. 2014; 181: 531-539.
45. Surdu S, Fitzgerald EF, Bloom MS, Boscoe FP, Carpenter DO, Haase RF et al. Occupational exposure to arsenic and risk of nonmelanoma skin cancer in a multinational European study. Int. J. Cancer. 2013; 133: 2182-2191.
46. Surdu S, Fitzgerald EF, Bloom MS, Boscoe FP, Carpenter DO, Haase RF et al. Occupational Exposure to Ultraviolet Radiation and Risk of Non-Melanoma Skin Cancer in a Multinational European Study //PLoS One. 2013; 8: e62359. Available at http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0062359; (Date accessed 28.08.2015).
47. Watt TC, Inskip PD, Stratton K, Smith SA, Kry S., Sigurdson AJ et al. Radiation-Related Risk of Basal Cell Carcinoma: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. JNCI J Natl. Cancer Inst. 2012; 104: 1240-1250.
48. Wehner MR, Chren MM, Nameth D, Choudhry A, Gaskins M, Nead KT et al. International prevalence of indoor tanning: a systematic review and meta-analysis. JAMA Dermatol. 2014; 150: 390-400.
49. Yaroslatseva-Isaeva EV, Kaplan MA. The effectiveness of photodynamic therapy for basal cell skin cancer early stage with the local administration of a photosensitizer photodithazine. Russian biotherapeutic J. 2008; (4): 31-32. Russian (Ярославцева-Исаева Е.В., Каплан М.А. Эффективность фотодинамической терапии базально-клеточного рака кожи начальной стадии с локальным введением фотосенсибилизатора фотодитазин //Российский биотерапевтический журнал. 2008. № 4. С. 31-32).
50. Zhang M, Qureshi AA, Geller AC, Frazier L, Hunter DJ, Han J. Use of Tanning Beds and Incidence of Skin Cancer. J. Clin. Oncol. 2012; 30: 1588-1593.

***Статья поступила в редакцию 10.09.2015 г.***

**Федорова Ю.С., Кульпин П.В.**
*Кемеровская государственная медицинская академия, г. Кемерово*

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДНО-СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПЕРИКАРПИЯ ПЛОДОВ GARCINIA MANGOSTANA L. МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Garcinia mangostana L. обладает широким спектром фармакологических действий, обусловленных входящими в ее состав биологически активными веществами - группой ксантонов. Содержание и влияние других биологически активных веществ, в частности летучих, изучено недостаточно.
**Предмет исследования.** Водно-спиртовое извлечение перикарпия плодов Garcinia mangostana L.
**Цель исследования** – исследование летучих компонентов водно-спиртового извлечения перикарпия плодов Garcinia mangostana L.
**Методы исследования.** Качественный анализ состава летучих компонентов биологически активных веществ проводили на хромато-масс-спектрометре Finnigan Trace DSQ (США).
**Основные результаты.** Обнаружены жирные кислоты и их эфиры, алкалоид трополонового ряда, монотерпены, и ряд других биологически активных веществ.
**Выводы.** В составе перикарпия Garcinia mangostana L.,содержится ряд биологически активных, летучих компонентов, свойства которых подлежат изучению.

***Ключевые слова:*** *Garcinia mangostana L.; перикарпий; ксантоны; летучие биологически активные вещества.*

**Fedorova Y.S., Kulpin P.V.**
*Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo*

**INVESTIGATION HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF PERICARP OF FRUIT GARCINIA MANGOSTANA L. GLC MASS SPECTROMETRY**

Garcinia mangostana L. has a broad spectrum of pharmacological actions due to its constituent active ingredients – a group of xanthones. The content and the influence of other biologically active substances, in particular volatile, has been insufficiently studied.
**The subject of the investigation.** Water-alcohol extract of pericarp fetus Garcinia mangostana L.
**The purpose of the investigation** – study of volatile components of hydro-alcoholic extract of pericarp fetus Garcinia mangostana L.
**Methods.** Qualitative analysis of the composition of the volatile components of biologically active substances carried in the gas chromatography-mass spectrometer Finnigan Trace DSQ (USA).

**Main results.** Found fatty acids and their esters, alkaloid tropolonovogo series monoterpenes, and a number of other biologically active substances.
**Conclusions.** As part of the pericarp Garcinia mangostana L., contains a number of biologically active, volatile components whose properties are to be studied.

***Key words:*** *Garcinia mangostana L.; pericarp; xanthones; volatile active ingredients.*

В настоящее время изучение группы биологически активных веществ (БАВ) – ксантонов привлекает внимание ученых по всему миру, что обусловлено широким спектром фармакологической активности данной группы. Ксантоны обладают выраженной противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью, противовоспалительным, антимикробным, антивирусным действием и др. [1].

В природе ксантоны не слишком широко распространены. Известное лекарственное растение Алоэ Вера (Aloe vera L.) содержит только один вид ксантонов, зверобой (Hypericum L.) и копеечник альпийский (Hedysarum alpinum L.) – два вида [2], природный комплекс витамина Е содержит девять ксантонов, Золотой Ус (Callisia fragrans) – 3 ксантона [3], и лишь плод Garcinia Mangostana L. – около 50 видов ксантонов и их производных (из 210 известных ксантонов) [4].

Известно, что перикарпий плодов Garcinia mangostana L., помимо основной группы БАВ – ксантонов, также содержит достаточно большое количество других биологически активных соединений (флавоноиды, дубильные вещества, катехины и др.) [5]. Однако современных объективных данных недостаточно для подтверждения безопасности применения и научной обоснованности заявленных фармакологических эффектов, что и обуславливает необходимость проведения детальных исследований состава БАВ перикарпия плодов Garcinia mangostana L.

**Цель исследования** – изучение летучих компонентов состава БАВ водно-спиртовых извлечений из перикарпия плодов Garcinia mangostana L.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Качественный анализ на содержание летучих компонентов БАВ проводили на хромато-масс-спектрометре Finnigan Trace DSQ, колонка капиллярная TR-5 MS, газ-носитель гелий (скорость потока 5 м/мин.). Термические параметры хроматографирования: начальная температура – 50°С (выдержка 5 мин.), конечная – 340°С (выдержка 10 мин.), скорость нагрева 10°С в минуту; температура ионного источника 200°С. Объем пробы ФП, вводимый в хроматограф – 10 мк/л. Подготовка пробы: раствор образца разбавляли в ацетонитриле 1 : 10 (метод SSMU sfagnum). Обработка результатов проводилась с помощью программы Qual Browser с использованием библиотеки данных NIST MS Search 2.0.

В качестве объекта исследования было выбрано водно-спиртовое извлечение перикарпия плодов Garcinia mangostana L., полученное обработкой сырья 47 % этанолом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в наших работах [6, 7] было показано, что по данным химических и хроматографических исследований основными компонентами водно-спиртового извлечения из перикарпия плодов Garcinia mangostana L. являются полифенольные соединения, такие как флавоноиды и дубильные вещества.

Метод ГЖХ-МС является высокоточным современным методом обнаружения БАВ в химии природных соединений. Данным методом был изучен химический состав летучих компонентов БАВ водно-спиртового извлечения из перикарпия плодов Garcinia mangostana L. Были обнаружены: диэтиленгликоля моноэтиловый эфир; стеариновая кислота; 1-метил-4-(1-метилэтилиден)-циклогексен; пальмитиновая кислота; β-каротин; миристиловый спирт; олеиловый спирт; фолиевая кислота; колхицин; метиловый эфир 9-октадеценовой кислоты; (Z)-9-октадеценовой кислоты метиловый эфир; 1,2-бензолдикарбоновой кислоты бис-(2-метилпропил) эфир; дибутилфталат.

В результате исследования водно-спиртового извлечения из перикарпия плодов Garcinia mangostana L. было выявлено наличие небольшого количества летучих веществ: дибутилфталат, жирные кислоты и их эфиры. Предположительно, данные вещества яв-

**Корреспонденцию адресовать:**
ФЕДОРОВА Юлия Сергеевна,
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а.
Тел.: 8 (3842) 35-89-16.
E-mail: fedorova_yuliya_sergeevna@mail.ru

**Сведения об авторах:**
ФЕДОРОВА Юлия Сергеевна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармацевтической химии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия. E-mail: fedorova_yuliya_sergeevna@mail.ru
КУЛЬПИН Павел Валерьевич, аспирант, кафедра фармацевтической химии, ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России, г. Кемерово, Россия.

**Information about authors:**
FEDOROVA Yuliya Sergeevna, candidate of pharmaceutical sciences, docent, department of pharmaceutical chemistry, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: fedorova_yuliya_sergeevna@mail.ru
KULPIN Pavel Valerievich, postgraduate, department of pharmaceutical chemistry, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia.

ляются предшественниками ксантонов в их биосинтезе, либо наоборот – продуктами их биодеструкции. Обнаружен алкалоид тропалонового ряда – колхицин. В минимальных количествах выделены монотерпены, обуславливающие, по всей видимости, запах исходного сырья – перикарпия плодов Garcinia mangostana L.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перикарпий плодов Garcinia mangostana L. является весьма перспективным лекарственным сырьем и заслуживает более детального изучения химического состава с целью создания на их основе разнообразных новых растительных лекарственных средств.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:


1. Song Y. Chemical constituents and biological activities of Garcinia mangostana and Piper betle Master's thesis. Universiti Putra Malaysia, 2012. 22 p.
2. Fedorova YS, Kuznetsov PV. Comparative phytochemical analysis of biologically active substances of some kind of herbal remedies Hedysarum. Bulletin of the Russian Academy of Natural Sciences. 2010: (12): 183-186. Russian (Федорова Ю.С., Кузнецов П.В. Сравнительный фитохимический анализ биологически активных веществ некоторых фитопрепаратов рода Hedysarum //Вестник Российской Академии естественных наук (ЗСО). 2010. Вып. 12. С. 183-186).
3. Kuvayev VB, Glyzin VI, Glyzina GS. Outlook searches mangiferina in the domestic flora. Herbal resources. 1972; 11(3): 367-371. Russian (В.Б. Куваев, В.И. Глызин, Г.С. Глызина и др. Перспективы поисков мангиферина в отечественной флоре //Растительные ресурсы. 1972. Т. 11, вып. 3. С. 367-371).
4. Zhou X, He L, Wu X, Zhong Y, Zhang J, Wang Y, Wang B, Xu Z, Qiu S. Two new xanthones from the pericarp of Garcinia mangostana. Nat Prod Res. 2015; 29(1): 19-23.
5. Widyanati, Pulan; Jufri, Mahdi; Elya, Berna. Formulation and Penetration Study of Liposome Gel Xanthone of Extract Mangosteen Pericarp (Garcinia mangostana L.). International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Resear. 2014; 27(2): 1.
6. Baradakova IV, Fedorov YS, Kulpin PV, Kuznetsov PV. Research extract from Garcinia Mangostana L. pericarp high performance liquid chromatography. Innovation Convention «Kuzbass: education, science and innovation», Kemerovo, 2013. p. 225-228. Russian (Барадакова И.В., Федорова Ю.С., Кульпин П.В., Кузнецов П.В. Исследование извлечения из перикарпия Garcinia Mangostana L. методом высокоэффективной жидкостной хроматографии //Инновационный конвент «Кузбасс: образование, наука, инновации», Кемерово, 5-7 декабря 2013. С. 225-228).
7. Kurgachev DA, Elovikova TJ, Kuznetsov PV, Fedorova YS, Baradakova IV, Kulpin PV. Investigation of the composition of the pericarp Garcinia Mangostana L. chemical and chromatographic methods. Innovation Convention «Kuzbass: education, science and innovation», Kemerovo 2013. p. 276-281 Russian (Кургачев Д.А., Еловикова Т.Ю., Кузнецов П.В., Федорова Ю.С., Барадакова И.В., Кульпин П.В. Исследование состава перикарпия Garcinia Mangostana L. химическими и хроматографическими методами //Инновационный конвент «Кузбасс: образование, наука, инновации», Кемерово, 5-7 декабря 2013. С. 276-281).


# УКАЗАТЕЛЬ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ «МЕДИЦИНА В КУЗБАССЕ» ЗА 2015 ГОД

## ОБЗОРЫ НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ


**Э**ПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РЕТИНОБЛАСТОМЫ /Янченко Т.В., Громакина Е.В. . . . . .2 (4)
**Э**ФФЕКТ ЗДОРОВОГО РАБОЧЕГО В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ /Максимов С.А. . . . . .2 (10)
**В**ОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ЛИПИДНЫХ НАРУШЕНИЙ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА /Иноземцева А.А., Барбараш О.Л. . . . . .2 (17)
**Г**ИГАНТСКИЕ ВИРУСЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ ПНЕВМОНИЙ /Кутихин А.Г., Южалин А.Е., Брусина Е.Б. . . . . .3 (3)
**О**ЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ /Печеник А.С., Шмакова М.А., Шатаев Г.Н., Перец О.В., Пекарская Е.В., Бобонец А.В., Турегалиев К.В. . . . . .4 (66)
**Э**ТИОЛОГИЯ И ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ НЕМЕЛАНОМНЫХ РАКОВ КОЖИ И МЕЛАНОМЫ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ /Блох А.И. . . . . .4 (71)


## ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ


**Р**ОЛЬ МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В ОПТИМИЗАЦИИ ПОМОЩИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ
В УСЛОВИЯХ МУНИЦИПАЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ /Кущ О.В., Херасков В.Ю., Крючков Д.В., Макаров С.А. . . . . .1 (51)


## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ


**А**НАЛИЗ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ НА ФОНЕ ЭПИДЕМИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ /Баянова Т.А., Ботвинкин А.Д. . . . . .4 (19)

**А**НТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИЕМИЕЙ /Сухина М.А., Жуховицкий В.Г., Селькова Е.П. . . . . .4 (48)
**Б**ИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОККОВОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ /Отдушкина Л.Ю. . . . . .4 (14)
**Б**ЛАСТОЦИСТНАЯ ИНВАЗИЯ: ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СВЯЗЬ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
КОЖИ /Вотинцев М.Н., Зуева Л.П., Козлов С.С., Азаров Д.В., Гончаров А.Е. . . . . .4 (45)
**В**ЕГЕТАТИВНАЯ ДИСРЕГУЛЯЦИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ
У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ /Лычев В.Г., Андриенко А.В., Бубликов Д.С., Налетова Н.П. . . . . .1 (12)
**В**ЛИЯНИЕ ВОСПАЛЕНИЯ И СПОСОБА ЗАПОЛНЕНИЯ КОСТНОЙ ПОЛОСТИ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ НИЖНЕГО ТРЕТЬЕГО МОЛЯРА
ПРИ ЕГО ЗАТРУДНЕННОМ ПРОРЕЗЫВАНИИ НА ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ /Лобанова Н.И., Кирейчук В.П., Каган Е.С. . . . . .3 (25)
**В**ЛИЯНИЕ ОЧАГА ПАРОДОНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ НА КАЧЕСТВЕННЫЙ
И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ /Гасюк Н.В. . . . . .1 (48)
**В**ЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ НА СЛИЗИСТУЮ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) /Шикунова Я.В. . . . . .1 (31)
**В**ЛИЯНИЕ СОПУТСТВУЮЩЕЙ ПАТОЛОГИИ НА ГОСПИТАЛЬНУЮ ЛЕТАЛЬНОСТЬ ПРИ АМПУТАЦИИ КОНЕЧНОСТИ
У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ /Макаров Д.Н., Золоева О.С. . . . . .3 (21)
**Г**ИГИЕНИЧЕСКОЕ РЕГЛАМЕНТИРОВАНИЕ 3-БРОМФЕНОЛА КАК ОСНОВА ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
РИСКА ЗДОРОВЬЮ РАБОТАЮЩИХ /Захаренков В.В., Олещенко А.М., Мартынова Н.А., Горохова Л.Г. . . . . .2 (53)
**Г**ИСТОАРХИТЕКТОНИКА СТЕНКИ ПУЗЫРНО-УРЕТРАЛЬНОГО СЕГМЕНТА У НОВОРОЖДЕННЫХ /Кашперук-Карпюк И.С. . . . . .1 (36)
**Д**ИНАМИКА УРОВНЯ СЕРОТОНИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ КРОВОТОЧАЩЕЙ
ЯЗВОЙ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ /Трофимов Н.В. . . . . .1 (40)
**И**ЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ТЕЛА У ЖЕНЩИН С РАЗЛИЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА /Лобыкина Е.Н., Маклакова Т.П., Татарникова И.С. . . . . .3 (40)
**И**ММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ПСЕВДОКИСТ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ /Ершов А.В. . . . . .1 (16)
**И**ССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ДЕТОКСИКАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ
И ФАКТОРОВ СРЕДЫ С РИСКОМ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО У МУЖЧИН /Гордеева Л.А., Мун С.А.,
Воронина Е.Н., Магатина А.Д., Титов В.А., Рагожина С.Е., Вафин И.А., Филипенко М.Л., Глушков А.Н. . . . . .3 (14)
**Л**ЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ВНУТРИПЕЧЕНОЧНОЙ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ
ОСЛОЖНЕННОЙ КРОВОТЕЧЕНИЕМ ИЗ ФЛЕБЭКТАЗИЙ ПИЩЕВОДА И ЖЕЛУДКА С ПРИМЕНЕНИЕМ
МИНИИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ /Бойко В.В., Авдосьев Ю.В., Грома В.Г., Лыхман В.Н., Шевченко А.Н., Мирошниченко Д.А. . . . . .2 (33)
**М**ЕТОД ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ КОНТАКТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ
НА ОСНОВЕ ИНДУКЦИОННОГО НАГРЕВА АППЛИКАТОРА ВИХРЕВЫМИ ТОКАМИ СУБМЕГАГЕРЦОВОГО
ДИАПАЗОНА В СОЧЕТАНИИ С КОНТАКТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИЕЙ /Васильченко И.Л., Осинцев А.М., Коломиец С.А. . . . . .1 (21)
**М**НОГОЛЕТНЯЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ
ВОЗБУДИТЕЛЯ В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ /Ефимова А.Р., Дроздова О.М., Карань Л.С. . . . . .4 (34)
**Н**ОВЫЙ КАНДИДАТНЫЙ ГЕН RS1333049 В РАЗВИТИИ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО
КРОВООБРАЩЕНИЯ /Никулин Д.А., Никулина С.Ю., Шульман В.А., Чернова А.А., Третьякова С.С., Платунова И.М. . . . . .3 (9)
**О**БОСНОВАНИЕ ВЫБОРА АНЕСТЕТИКОВ С ЦЕЛЬЮ ЗАЩИТЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА
И ПРОФИЛАКТИКИ КОГНИТИВНОГО СНИЖЕНИЯ ВО ВРЕМЯ ОПЕРАЦИИ КОРОНАРНОГО
ШУНТИРОВАНИЯ /Ларионов М.В., Трубникова О.А., Плотников Г.П., Григорьев Е.В., Шукевич Д.Л. . . . . .3 (43)
**О**СНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ И ФАКТОРЫ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ НА ТЕРРИТОРИИ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ /Медведева Н.В. . . . . .3 (51)
**О**ЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕЙРОДИНАМИКИ, ПАМЯТИ, ВНИМАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ
ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ МОЛОДОГО И СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА /Фомина Н.В., Егорова М.В., Смакотина С.А., Лотц С.В. . . . . .2 (39)
**Р**АННИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЧКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ОКСАЛАТНОМ НЕФРОЛИТИАЗЕ /Мотин Ю.Г., Бгатова Н.П., Лепилов А.В., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Мотина Н.В. . . . . .2 (43)
**Р**ЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ И МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗМА ЛИЦ ЮНОШЕСКОГО
ВОЗРАСТА /Барбараш Н.А., Кувшинов Д.Ю., Калентьева С.В., Чичиленко М.В., Тарасенко Н.П., Прокашко И.Ю., Изместьев К.В. . . . . .1 (26)
**Р**ОЛЬ ГРИБОВ РОДА CANDIDA В РАЗВИТИИ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ /Марковская А.А. . . . .4 (23)
**Р**ОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ TLRS В РАЗВИТИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА /Головкин А.С.,
Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Жидкова И.И., Хуторная М.В., Салахов Р.Р., Барбараш О.Л. . . . . .1 (3)
**С**ВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА TOLL-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 2 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ МИТРАЛЬНЫХ
ПОРОКОВ СЕРДЦА /Понасенко А.В., Хуторная М.В., Кутихин А.Г., Южалин А.Е., Хрячкова О.Н., Головкин А.С. . . . . .2 (24)
**С**ВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ TLR С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО
ЭНДОКАРДИТА /Понасенко А.В., Кутихин А.Г., Хуторная М.В., Южалин А.Е., Рутковская Н.В., Головкин А.С., Барбараш Л.С. . . . . .4 (4)
**С**ОСТОЯНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ /Захарова Ю.В., Леванова Л.А. . . . . .4 (29)
**С**РАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО
ЭКСПРЕСС-ТЕСТА И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ВЕРИФИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ ПНЕВМОКОККОВЫХ
ПНЕВМОНИЙ /Николенко В.В., Фельдблюм И.В., Захарова Ю.А., Воробьева Н.Н. . . . . .4 (10)
**С**ХОДСТВО МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК, И ИСКУССТВЕННО
СИНТЕЗИРОВАННЫХ МИНЕРАЛО-ОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ /Кутихин А.Г., Великанова Е.А., Глушкова Т.В., Ефимова О.С.,
Попова А.Н., Малышева В.Ю., Владимиров А.А., Созинов С.А., Руссаков Д.М., Гутаковский А.К., Живодков Ю.А., Демидов Е.А.,
Пельтек С.Е., Долганюк В.Ф., Бабич О.О., Фролов А.В., Мухамадияров Р.А., Долгов В.Ю., Григорьев Е.В., Брусина Е.Б., Барбараш О.Л. . .4 (55)

**Х**АРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ КАРИЕСРЕЗИСТЕНТОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СВОЙСТВ
РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ЖИТЕЛЕЙ Г. КЕМЕРОВО /Размахнина Е.М., Киселева Е.А. . . . . .1 (44)
**Х**ИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ПОСТНЕКРОТИЧЕСКИМИ КИСТАМИ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ /Рейс А.Б., Морозов С.В., Полуэктов В.Л., Долгих В.Т. . . . . .2 (48)
**Ч**АСТОТА КОНТАМИНАЦИИ МИКОБАКТЕРИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗА ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ
СРЕДЫ МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ, ОКАЗЫВАЮЩЕЙ ПОМОЩЬ ПАЦИЕНТАМ
С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ /Сармометов Е.В., Сергевнин В.И., Микова О.Е., Зимина В.Н., Варецкая Т.А., Шмагин Д.В. . . . . .4 (40)
**Ш**ТАММЫ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ МУТАЦИЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ S. AUREUS РАЗЛИЧНЫХ SPA-СИКВЕНСТИПОВ:
ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ /Гончаров А.Е. . . . . .4 (26)
**Э**ФФЕКТИВНОСТЬ НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ТАБАКОКУРЕНИЯ У ЛИЦ
ЮНОШЕСКОГО ВОЗРАСТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА /Рябинина Е.Н., Мосейко У.А., Чичиленко М.В. . . . . .3 (33)

## ДИСКУССИЯ

**В**ОЗМОЖНОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА /Торгунаков А.П., Торгунаков С.А. . . . . .2 (56)

## СЛУЧАИ ИЗ ПРАКТИКИ

**И**СПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК ИЗ ФИКСИРОВАННЫХ ЛИМФОЦИТОВ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ
AZF-МИКРОДЕЛЕЦИЙ У ЧЕЛОВЕКА /Волков А.Н., Рытенкова О.И., Цуркан Е.В., Лысенко Д.И. . . . . .3 (63)
**Н**ЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ (МРТ-ИССЛЕДОВАНИЕ) ХРОНИЧЕСКОГО КЛЕЩЕВОГО
ЭНЦЕФАЛИТА /Субботин А.В., Семенов В.А., Смирнов В.Д., Мошнегуц С.В., Зуева С.А. . . . . .3 (66)

## ОБМЕН ОПЫТОМ

**К**ЛИНИЧЕСКИЕ И МРТ ОСОБЕННОСТИ СТАБИЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ
ПОЗВОНОЧНИКА И СПИННОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ /Ситко Л.А., Воробьев А.М. . . . . .1 (57)
**Р**ЕЗУЛЬТАТЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РЕТИНОБЛАСТОМЫ /Янченко Т.В., Громакина Е.В., Яровой А.А., Кривовяз О.С. . . . . .3 (57)

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

**И**ССЛЕДОВАНИЕ ВОДНО-СПИРТОВОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПЕРИКАРПИЯ ПЛОДОВ GARCINIA MANGOSTANA L.
МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ /Федорова Ю.С., Кульпин П.В. . . . . .4 (76)

# ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ ЖУРНАЛА «МЕДИЦИНА В КУЗБАССЕ» ЗА 2015 ГОД

**А**

АВДОСЬЕВ Ю.В. . . . . .2 (33)
АЗАРОВ Д.В. . . . . .4 (45)
АНДРИЕНКО А.В. . . . . .1 (12)

**Б**

БАБИЧ О.О. . . . . .4 (55)
БАРБАРАШ Л.С. . . . . .4 (55)
БАРБАРАШ Н.А. . . . . .1 (26)
БАРБАРАШ О.Л. . . . . .1 (3), 2 (17), 4 (4)
БАЯНОВА Т.А. . . . . .4 (19)
БГАТОВА Н.П. . . . . .2 (43)
БЛОХ А.И. . . . . .4 (71)
БОБОНЕЦ А.В. . . . . .4 (66)
БОЙКО В.В. . . . . .2 (33)
БОТВИНКИН А.Д. . . . . .4 (19)
БРУСИНА Е.Б. . . . . .3 (3), 4 (55)
БУБЛИКОВ Д.С. . . . . .1 (12)

**В**

ВАРЕЦКАЯ Т.А. . . . . .4 (40)
ВАСИЛЬЧЕНКО И.Л. . . . . .1 (21)
ВАФИН И.А. . . . . .3 (14)
ВЕЛИКАНОВА Е.А. . . . . .4 (55)
ВЛАДИМИРОВ А.А. . . . . .4 (55)
ВОЛКОВ А.Н. . . . . .3 (63)
ВОРОБЬЕВ А.М. . . . . .1 (57)
ВОРОБЬЕВА Н.Н. . . . . .4 (10)
ВОРОНИНА Е.Н. . . . . .3 (14)
ВОТИНЦЕВ М.Н. . . . . .4 (45)

**Г**

ГАСЮК Н.В. . . . . .1 (48)
ГЛУШКОВ А.Н. . . . . .3 (14)
ГЛУШКОВА Т.В. . . . . .4 (55)
ГОЛОВКИН А.С. . . . . .1 (3), 2 (24), 4 (4)
ГОНЧАРОВ А.Е. . . . . .4 (26), 4 (45)
ГОРДЕЕВА Л.А. . . . . .3 (14)
ГОРОХОВА Л.Г. . . . . .2 (53)

ГРИГОРЬЕВ Е.В. . . . . .3 (43), 4 (55)
ГРОМА В.Г. . . . . .2 (33)
ГРОМАКИНА Е.В. . . . . .2 (4), 3 (57)
ГУТАКОВСКИЙ А.К. . . . . .4 (55)

**Д**

ДЕМИДОВ Е.А. . . . . .4 (55)
ДОЛГАНЮК В.Ф. . . . . .4 (55)
ДОЛГИХ В.Т. . . . . .2 (48)
ДОЛГОВ В.Ю. . . . . .4 (55)
ДРОЗДОВА О.М. . . . . .4 (34)

**Е**

ЕГОРОВА М.В. . . . . .2 (39)
ЕРШОВ А.В. . . . . .1 (16)
ЕФИМОВА А.Р. . . . . .4 (34)
ЕФИМОВА О.С. . . . . .4 (55)

**Ж**

ЖАРИКОВ А.Ю. . . . . .2 (43)
ЖИВОДКОВ Ю.А. . . . . .4 (55)
ЖИДКОВА И.И. . . . . .1 (3)
ЖУХОВИЦКИЙ В.Г. . . . . .4 (48)

**З**

ЗАХАРЕНКОВ В.В. . . . . .2 (53)
ЗАХАРОВА Ю.А. . . . . .4 (10)
ЗАХАРОВА Ю.В. . . . . .4 (29)
ЗИМИНА В.Н. . . . . .4 (40)
ЗОЛОЕВА О.С. . . . . .3 (21)
ЗУЕВА Л.П. . . . . .4 (45)
ЗУЕВА С.А. . . . . .3 (66)

**И**

ИЗМЕСТЬЕВ К.В. . . . . .1 (26)
ИНОЗЕМЦЕВА А.А. . . . . .2 (17)

**К**

КАГАН Е.С. . . . . .3 (25)
КАЛЕНТЬЕВА С.В. . . . . .1 (26)
КАРАНЬ Л.С. . . . . .4 (34)
КАШПЕРУК-КАРПЮК И.С. . . . . .1 (36)
КИРЕЙЧУК В.П. . . . . .3 (25)
КИСЕЛЕВА Е.А. . . . . .1 (44)
КОЗЛОВ С.С. . . . . .4 (45)
КОЛОМИЕЦ С.А. . . . . .1 (21)
КРИВОВЯЗ О.С. . . . . .3 (57)
КРЮЧКОВ Д.В. . . . . .1 (51)
КУВШИНОВ Д.Ю. . . . . .1 (26)
КУЛЬПИН П.В. . . . . .4 (76)
КУТИХИН А.Г. . . . . .1 (3), 2 (24), 3 (3), . . . . . .4 (4), 4 (55)
КУЩ О.В. . . . . .1 (51)

**Л**

ЛАМПАТОВ В.В. . . . . .2 (43)
ЛАРИОНОВ М.В. . . . . .3 (43)
ЛЕВАНОВА Л.А. . . . . .4 (29)
ЛЕПИЛОВ А.В. . . . . .2 (43)
ЛОБАНОВА Н.И. . . . . .3 (25)
ЛОБЫКИНА Е.Н. . . . . .3 (40)
ЛОТЦ С.В. . . . . .2 (39)
ЛЫСЕНКО Д.И. . . . . .3 (63)
ЛЫХМАН В.Н. . . . . .2 (33)
ЛЫЧЕВ В.Г. . . . . .1 (12)

**М**

МАГАТИНА А.Д. . . . . .3 (14)
МАКАРОВ Д.Н. . . . . .3 (21)
МАКАРОВ С.А. . . . . .1 (51)
МАКЛАКОВА Т.П. . . . . .3 (40)
МАКСИМОВ С.А. . . . . .2 (10)
МАЛЫШЕВА В.Ю. . . . . .4 (55)
МАРКОВСКАЯ А.А. . . . . .4 (23)
МАРТЫНОВА Н.А. . . . . .2 (53)
МЕДВЕДЕВА Н.В. . . . . .3 (51)
МИКОВА О.Е. . . . . .4 (40)
МИРОШНИЧЕНКО Д.А. . . . . .2 (33)
МОРОЗОВ С.В. . . . . .2 (48)
МОСЕЙКО У.А. . . . . .3 (33)
МОТИН Ю.Г. . . . . .2 (43)
МОТИНА Н.В. . . . . .2 (43)
МОШНЕГУЦ С.В. . . . . .3 (66)
МУН С.А. . . . . .3 (14)
МУХАМАДИЯРОВ Р.А. . . . . .4 (55)

**Н**

НАЛЕТОВА Н.П. . . . . .1 (12)
НИКОЛЕНКО В.В. . . . . .4 (10)
НИКУЛИН Д.А. . . . . .3 (9)
НИКУЛИНА С.Ю. . . . . .3 (9)

**О**

ОЛЕЩЕНКО А.М. . . . . .2 (53)
ОСИНЦЕВ А.М. . . . . .1 (21)
ОТДУШКИНА Л.Ю. . . . . .4 (14)

**П**

ПЕКАРСКАЯ Е.В. . . . . .4 (66)
ПЕЛЬТЕК С.Е. . . . . .4 (55)
ПЕРЕЦ О.В. . . . . .4 (66)
ПЕЧЕНИК А.С. . . . . .4 (66)
ПЛАТУНОВА И.М. . . . . .3 (9)
ПЛОТНИКОВ Г.П. . . . . .3 (43)
ПОЛУЭКТОВ В.Л. . . . . .2 (48)
ПОНАСЕНКО А.В. . . . . .1 (3), 2 (24), 4 (4)
ПОПОВА А.Н. . . . . .4 (55)
ПРОКАШКО И.Ю. . . . . .1 (26)

**Р**

РАГОЖИНА С.Е. . . . . .3 (14)
РАЗМАХНИНА Е.М. . . . . .1 (44)
РЕЙС А.Б. . . . . .2 (48)
РУССАКОВ Д.М. . . . . .4 (55)
РУТКОВСКАЯ Н.В. . . . . .4 (4)
РЫТЕНКОВА О.И. . . . . .3 (63)
РЯБИНИНА Е.Н. . . . . .3 (33)

**С**

САЛАХОВ Р.Р. . . . . .1 (3)
САРМОМЕТОВ Е.В. . . . . .4 (40)
СЕЛЬКОВА Е.П. . . . . .4 (48)
СЕМЕНОВ В.А. . . . . .3 (66)
СЕРГЕВНИН В.И. . . . . .4 (40)
СИТКО Л.А. . . . . .1 (57)
СМАКОТИНА С.А. . . . . .2 (39)
СМИРНОВ В.Д. . . . . .3 (66)
СОЗИНОВ С.А. . . . . .4 (55)
СУББОТИН А.В. . . . . .3 (66)
СУХИНА М.А. . . . . .4 (48)

**Т**

ТАРАСЕНКО Н.П. . . . . .1 (26)
ТАТАРНИКОВА И.С. . . . . .3 (40)
ТИТОВ В.А. . . . . .3 (14)
ТОРГУНАКОВ А.П. . . . . .2 (56)
ТОРГУНАКОВ С.А. . . . . .2 (56)
ТРЕТЬЯКОВА С.С. . . . . .3 (9)
ТРОФИМОВ Н.В. . . . . .1 (40)
ТРУБНИКОВА О.А. . . . . .3 (43)
ТУРЕГАЛИЕВ К.В. . . . . .4 (66)

**Ф**

ФЕЛЬДБЛЮМ И.В. . . . . .4 (10)
ФЕДОРОВА Ю.С. . . . . .4 (76)
ФИЛИПЕНКО М.Л. . . . . .3 (14)
ФОМИНА Н.В. . . . . .2 (39)
ФРОЛОВ А.В. . . . . .4 (55)

**Х**

ХЕРАСКОВ В.Ю. . . . . .1 (51)
ХРЯЧКОВА О.Н. . . . . .2 (24)
ХУТОРНАЯ М.В. . . . . .1 (3), 2 (24), 4 (4)

**Ц**

ЦУРКАН Е.В. . . . . .3 (63)

**Ч**

ЧЕРНОВА А.А. . . . . .3 (9)
ЧИЧИЛЕНКО М.В. . . . . .1 (26), 3 (33)

**Ш**

ШАТАЕВ Г.Н. . . . . .4 (66)
ШЕВЧЕНКО А.Н. . . . . .2 (33)
ШИКУНОВА Я.В. . . . . .1 (31)
ШМАГИН Д.В. . . . . .4 (40)
ШМАКОВА М.А. . . . . .4 (66)
ШУКЕВИЧ Д.Л. . . . . .3 (43)
ШУЛЬМАН В.А. . . . . .3 (9)

**Ю**

ЮЖАЛИН А.Е. . . . . .2 (24), 3 (3), 4 (4)

**Я**

ЯНЧЕНКО Т.В. . . . . .2 (4), 3 (57)
ЯРОВОЙ А.А. . . . . .3 (57)

### ОЦЕНКА РАСХОДОВ, СВЯЗАННЫХ С АМБУЛАТОРНЫМ И СТАЦИОНАРНЫМ ЛЕЧЕНИЕМ ОРВИ И ГРИППА И ИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

**Нурматов З.Ш. (z.nurmatov@mail.ru)**
*НПО «Профилактическая медицина» Минздрава Кыргызской Республики, г. Бишкек*

*[Статья опуликована в журнале «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика». 2015. Т. 14, № 5(84)]*

До настоящего времени в Кыргызской Республике не проводилась оценка экономического ущерба от заболеваемости населения Республики ОРВИ и гриппом.
**Цель настоящего исследования** – определение экономического ущерба, наносимого гриппом и ОРВИ, в Республике. Исследование проводилось в 2013-2014 годах на базе двух стационаров и поликлиники г. Бишкека с включением в него госпитализированных больных детей и взрослых, а также больных, получивших амбулаторное лечение. При этом было установлено, что затраты на один случай среди исследуемых больных составили 4771,41 сома (97,79 $ США). Затрат на медицинские расходы было меньше, чем на немедицинские (41,3 в сравнении с 58,7 %).
Результаты данного исследования позволили впервые в Кыргызстане рассчитать общую сумму затрат на лечение ОРВИ и гриппа. В 2013 году они составили 636516889,2 киргизских сома, или 13835558,85 $ США. Анализ результатов исследования позволил определить факторы, влияющие на объем расходов медицинских учреждений и больных, а также дать обоснование необходимости проведения профилактических прививок против гриппа среди населения в качестве высокоэффективной меры, как с медицинской, так и с экономической позиций.

### ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В РЕГИОНАХ СИБИРИ С РАЗЛИЧНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

**Пасечник О.А. (opasechnik@mail.ru), Стасенко В.Л. (vlstasenko@yandex.ru), Блох А.И. (spy_spirit@mail.ru)**
*ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Омск*

*[Статья опуликована в журнале «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика». 2015. Т. 14, № 5(84)]*

Территория Сибирского федерального округа в 2005-2014 годах характеризуется умеренной тенденцией к снижению заболеваемости населения туберкулезом и выраженным ростом распространения ВИЧ-инфекции. Субъекты Сибирского федерального округа, в которых распространенность ВИЧ-инфекции превышала уровень 705,0 на 100 тыс. населения, имели достоверные различия в показателях заболеваемости населения туберкулезом (115,4 на 100 тыс. населения), распространенности туберкулеза (278,6 на 100 тыс. населения), инвалидности (73,3 на 100 тыс. населения) и смертности от туберкулезной инфекции (25,5на 100 тыс. населения). Неблагоприятный краткосрочный прогноз по заболеваемости населения ВИЧ-ассоциированным туберкулезом требует изменения подходов к организации системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией и туберкулезом.

### СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА. СООБЩЕНИЕ I: ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА В ЗОНЕ ДОМИНИРОВАНИЯ СИБИРСКОГО ПОДТИПА ВОЗБУДИТЕЛЯ

**Погодина В.В.[1] (pogodina_v_v@mail.ru), Щербинина М.С.[1], Герасимов С.Г.[1, 2], Колясникова Н.М.[1]**
*[1]ФГБНУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», г. Москва*
*[2]ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва*

*[Статья опуликована в журнале «Эпидемиология и Вакцинопрофилактика». 2015. Т. 14, № 5(84)]*

Клещевой энцефалит (КЭ) – заболевание с преимущественным поражением центральной нервной системы, представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему для здравоохранения России и многих европейских стран. Вирус КЭ (ВКЭ) генетически имеет три основных подтипа: дальневосточный, европейский и сибирский. Сибирский подтип ВКЭ доминирует на большей части территории России за пределами Дальнего Востока. Современные инактивированные культуральные вакцины отечественного и зарубежного производства готовятся из штаммов дальневосточного и европейского подтипов. В обзоре данных литературы и собственных исследованиях характеризуются зона доминирования сибирского подтипа ВКЭ, масштабы вакцинопрофилактики. Анализируется значение генетических различий между сибирским подтипом и вакцинными штаммами. Обсуждаются новые подходы к отбору тест-штаммов.