

УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Под общей научной редакцией академика РАЕН
Ю.В. Сергеева

Том VII

**МАТЕРИАЛЫ ЧЕТВЕРТОГО ВСЕРОССИЙСКОГО КОНГРЕССА
ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

Москва
Национальная Академия Микологии
2006

ББК 28.591
УДК 58-616.5
У78

Редакционная коллегия:

Сергеев Ю. В. (главный редактор)
Лещенко В. М. (ответственный секретарь)
Бибикова М. В.
Дьяков Ю. Т.
Левитин М. М.
Кравченко Л. М.
Мусселиус С. Г.
Озерская С. М.
Панин А. Н.
Саркисов К. А.
Сергеев А. Ю.
Тутельян В. А.
Феофилова Е. П.

У78 Успехи медицинской микологии. — Т. 7. — М.: Национальная академия микологии, 2006. — 346 с.

Седьмой том периодического сборника «Успехи медицинской микологии» включает научные труды, посвященные морфологии, физиологии и биохимии патогенных, токсигенных и аллергенных грибов, их распространенности в современном окружении человека. Рассмотрены проблемы аллергии и иммунопатологии, обусловленной грибами, а также микозов, ассоциированных с особыми формами иммунодефицита. В главе, посвященной микотоксикозам и отравлениям грибами, приведены новые сведения о грибных токсинах, вызываемых ими заболеваниях и способах борьбы с ними. В главе «Перспективные антимикотики» уделено внимание не только разрабатываемым противогрибковым препаратам, но и другим соединениям с фунгицидным потенциалом, а также методикам, позволяющим деконтаминацию биологических субстратов и технических объектов. Эти вопросы обсуждаются в тесной связи с проблемами чувствительности и устойчивости возбудителей микозов к современным противогрибковым средствам, способам их изучения и преодоления. Традиционно большой раздел сборника объединяет материалы по новым грибным биотехнологиям в медицине, отечественному и международному опыту их внедрения и использования, в том числе — лекарственных препаратов, биологически активных веществ, а также медицинскому применению культивируемых съедобных грибов. Завершает том глава по вопросам организации микологической службы в России, ее совершенствованию и преподаванию медицинской микологии. Издание составлено на основе материалов Четвертого Всероссийского конгресса по медицинской микологии.

ББК 28.591
УДК 58-616.5

*Издано в Российской Федерации в рамках программы
Национальной академии микологии*

ПРЕДИСЛОВИЕ

Очередной, Четвертый Всероссийский конгресс по медицинской микологии продолжает традиции Национальной Академии Микологии — предоставлять наиболее открытые возможности для общения и обмена опытом врачей и исследователей разных отраслей медицины, связанных с любыми проблемами взаимодействия человека и грибов. За несколько лет, прошедших с начала проведения конгрессов, это событие стало наиболее крупным ежегодным форумом по медицинской микологии не только в России и СНГ, но и во всем мире. Признание и уважение, которое заслужили Всероссийские конгрессы по медицинской микологии, подтверждаются как высокими оценками и рецензиями наших коллег, так и неизменно возрастающим числом участников Конгресса из разных стран, их докладов и публикаций.

Опыт изучения проблемы грибковых заболеваний, внедрения новых средств борьбы с ними и развития грибной биотехнологии в медицине, обогащается с каждым годом. Это находит отражение в материалах ежегодного сборника «Успехи медицинской микологии», VII и VIII тома которого предлагаются Вашему вниманию. Что нового Вы можете узнать из них?

Получены новые данные о морфофизиологических и биохимических свойствах возбудителей грибковых заболеваний, что делает возможным постижение природы их вирулентности, токсигенных и аллергенных свойств, новых закономерностей развития обусловливаемых ими заболеваний человека.

Вопросы микологической экологии и распространенности болезнетворных грибов в современном окружении человека, биоценозах и антропоценозах тесно связаны с эпидемиологией грибковых заболеваний человека, динамикой заболеваемости микозами, микотоксикозами и микоаллергозами. Последние вопросы традиционно рассматриваются в первом из двух томов ежегодника, и в VII томе им уделено особое внимание.

Развитие современной противогрибковой терапии за рубежом с появлением многих новых препаратов для терапии инвазивных микозов не отменяет проблему устойчивости возбудителей микозов к современным антимикотикам, данные о которой накапливаются в России и других странах. Для ее решения ведется активный поиск новых, перспективных антимикотиков, соединений и методик с выраженным противогрибковым потенциалом — как для лечения, так и для профилактики грибковых заболеваний человека.

Новые грибные биотехнологии, разработанные в России и сопредельных странах, обогатили медицину лекарственными препаратами, компонентами биологически активных субстанций, диагностических и лечебных технологий. Накапливается клинический опыт их использования. Появляются новые лекарственные препараты, пищевые добавки на основе грибов, развивается традиционное направление фунготерапии и использования культивируемых съедобных грибов в медицинских целях.

Клинические разделы сборника, посвященные грибковым инфекциям человека, построены традиционно: они рассматриваются последовательно вслед за аспектами эпидемиологии, этиологии и патогенеза, лабораторной и инструментальной диагностики.

Новой в VIII томе является глава по молекулярно-генетической диагностике микозов, с фокусом на массовые грибковые заболевания человека и особо опасные микозы. Достижения отечественных микологических научных коллективов, сделавшие возможным определение генетического материала дерматофитов в клиническом материале за одни сутки, подтвержденные многолетними наблюдениями, не имеют аналогов в мире и составляют научный приоритет России по медицинской микологии в целом.

Дерматомикология как часть медицинской микологии, посвященная наиболее массовым грибковым заболеваниям человека, исторически также получила наибольшее развитие в России — как за счет классической дерматологической научной школы, так и благодаря планомерному поиску и внедрению эффективных лечебно-профилактических технологий. Значительный опыт диагностики и лечения дерматофитии разных локализаций, разноцветного лишая и кандидоза кожи, полученный за последние годы, широко обсуждается в последних главах сборника. В отдельные разделы вынесены микозы в педиатрии, проблемы кандидозов слизистых оболочек, актиномикоза.

Российский опыт диагностики и лечения инвазивных грибковых инфекций в онкологии, гематологии и трансплантологии включает отдельные и многоцентровые клинические исследования и перекликается с данными, полученными при изучении этиологического разнообразия и профилей чувствительности возбудителей оппортунистических микозов — по масштабам и новизне не уступающими крупным зарубежным проектам в этой области.

Продолжая серию публикаций отечественных и зарубежных исследователей, включенных в ранее вышедшие I—VI тома сборника «Успехи медицинской микологии», настоящее издание подготовлено редакционной коллегией, в которую вошли известные ученые, признанные авторитеты в фундаментальной, прикладной и медицинской микологии. Замечательный коллектив авторов, широкое представительство научных школ и направлений, охват рассматриваемых проблем и высокий научно-методический уровень публикаций, составленных на основе трудов Четвертого Всероссийского конгресса по медицинской микологии, делают настоящий сборник энциклопедией современного состояния медицинской микологии в России и мире.

Президент Национальной академии микологии,
Академик РАЕН,
Заслуженный врач Российской Федерации

Сергеев Ю.В.

Глава 1

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПАТОГЕННЫХ, ТОКСИГЕННЫХ И АЛЛЕРГЕННЫХ ГРИБОВ

СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЦИНКА И МАРГАНЦА, КАК МОДУЛЯТОРЫ ПАТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБКОВОГО АЛЛЕРГЕНА *CANDIDA ALBICANS*

Галимзанова Р.Р., Кутырева М.П.

Казанский государственный университет

Секреторные аспарагиновые протеиназы *C. albicans* являются ключевыми ферментами, определяющими патогенность грибкового аллергена *Candida albicans* и представляют поэтому особенный интерес как мишени для физиологически активных веществ и лекарственных агентов. Проведено сравнительное изучение влияния неорганических солей цинка (II) и марганца (II) на каталитическую активность индуцируемой аспарагиновой протеиназы *Candida albicans*, обладающей антигенными свойствами. Химические аспекты координационных взаимодействий Zn(II) и Mn(II) с аспарагиновой протеазой *C. albicans* в литературе практически не представлены.

Для оценки взаимодействия SAP с неорганическими солями Zn(II) и Mn(II) использовали классический подход к исследованию процессов комплексообразования в растворах с обработкой данных СФ-метрических исследований методом математического моделирования по программе SPESSP. Рассчитанные исходя их данных электронной спектроскопии по методу сдвига равновесий логарифмы значения констант устойчивости составили – $\lg\beta = 4,73 \pm 0,20$ для комплекса [SAP *C. albicans* – Zn (II)] и – $\lg\beta = 7,02 \pm 0,20$ для комплекса [SAP *C. albicans* – Mn (II)].

По результатам проведенных экспериментов оптимальные условия гидролиза субстрата – ЧСА в присутствии протеазы составили: $S_{\text{чса}} = 0,004$ г/мл, $CSAP = 2,33 \pm 10^{-6}$ моль/л, $pH = 4,5$, время инкубации 25 минут. Оценена активность SAP *C. albicans* в присутствии солей Zn(II) и Mn(II) в различных концентрациях в оптимальных условиях ферментативного гидролиза. Из полученных данных следует, что в диапазоне концентраций от $1 \cdot 10^{-8}$ до $1 \cdot 10^{-7}$ и от $1 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л цинк проявляет ингибирующее действие, а в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-7}$ – $7 \cdot 10^{-7}$ моль/л впервые обнаружено активирующее действие $ZnCl_2$ по отношению к протеиназе. Соли марганца проявляют только ингибирующее действие во всем диапазоне исследуемых концентраций. Эффект ингибирования солями Mn(II) намного сильнее, чем в присутствии солей Zn(II) вплоть до денатурации фермента в области концентрации от $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л и ниже.

По результатам кинетических исследований рассчитаны максимальная скорость ферментативной реакции (V_m), кажущаяся константа Михаэлиса (K_m) и константы эффектов в присутствии и отсутствие $ZnCl_2$. В присутствии солей Zn (II) в различных диапазонах концентраций наблюдаются следующие эффекты: частично неконкурентного инги-

бирования, неконкурентной активации. То есть модулятор изменяет каталитическую функцию фермента, не затрагивая ассоциативную.

Результаты исследований в модельных системах использованы для оценки соответствия свойств патогенных штаммов свойствам их ферментативных систем. Согласно экспериментальным данным наблюдается соответствие эффектов ингибирования или активации ферментативных систем в присутствии в качестве модуляторов соединений цинка альбуминазной активности патогенных штаммов. *Candida albicans*.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки методик комплексного лечения корректировки микозов *Candida albicans*.

ВИДОВОЕ И ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA*

Ганнибал Ф.Б., Левитин М.М.

Всероссийский институт защиты растений
Санкт-Петербург-Пушкин

Род *Alternaria* представляют собой группу микромицетов с разной степенью паразитизма (от сапротрофов до биотрофов), уровнем специализации и своеобразными взаимоотношениями с другими организмами. Некоторые виды этого рода обладают способностью продуцировать опасные для человека, животных и растений микотоксины (Тутельян, Кравченко, 1985). За последние 20 лет систематика рода значительно продвинулась вперед, но до сих пор имеются определенные трудности при идентификации видов и анализе внутривидовой структуры. В настоящее время в решении таксономических проблем могут помочь современные молекулярно-генетические методы исследований, что показано на примере других микромицетов (Taylor et al., 1999; Мироненко, 2004).

Целью нашей работы являлось проведение инвентаризации видового состава грибов рода *Alternaria*, паразитирующих на злаках и способных в процессе жизнедеятельности продуцировать токсические вещества. В процессе исследований проанализированы семена зерновых культур из 34 регионов России и некоторых других стран Евразии. Всего было получено и идентифицировано около 2500 изолятов. Идентификацию проводили традиционными микологическими и молекулярно-генетическими методами. Токсигенность оценивали тестированием культуральной жидкости на семенах пшеницы.

Результаты исследований показали, что на территории России большинство изолятов относятся к видам *A. alternata*, *A. tenuissima* и комплексу видов *A. infectoria*. При изучении морфолого-культуральных свойств изолятов *Alternaria* было выявлено IV типа колоний: тип I (изоляты *A.*

tenuissima) – колонии с хорошо развитым воздушным мицелием чаще серо-зеленых или зеленовато-желтых тонов; тип II (*A. tenuissima*) – колонии с густым высоким воздушным мицелием, в центре коричневые, по периферии – бесцветные; тип III (*A. alternata* и *A. tenuissima*) – темно-оливковые или темно-зеленые бархатистые колонии со слабо развитым воздушным мицелием; тип IV (комплекса видов *A. infectoria*) – колонии с обильным бесцветным или слабоокрашенным мицелием (розовый, желтый, серый или иных оттенков). Уточнение таксономии изучаемых изолятов проводили также молекулярно-генетическими методами. Кластерный анализ полиморфизма штаммов, проведенный после молекулярно-генетических исследований (методами RAPD-PCR и AFLP) подтвердил правильность традиционной идентификации видов *Alternaria*.

Среди выявленных нами на злаках видов наиболее токсигенными оказались *A. alternata* и *A. tenuissima*. В нашей коллекции практически все штаммы *A. alternata* были высоко токсигенными. Выборка изолятов *A. tenuissima* наполовину состояла из высокотоксичных образцов, остальные изоляты обладали умеренной токсигенностью. Микофлористические исследования показали, что вид *A. alternata* встречается спорадически, в то время как вид *A. tenuissima* распространен на злаках повсеместно и выделяется из них с высокой частотой. В целом по России он был обнаружен в 93% образцов. Виды комплекса *A. infectoria*, часто встречающиеся в семенах зерновых культур в Европейской части России, оказались слабо токсигенными.

При проведении ПЦР с праймерами AAF2/AAR3 (TGCAATCAGTCAGTAACAAT и ATGGATGCTAGACCTTTGCTGAT), сконструированными для идентификации вида *A. alternata* (Konstantinova et al., 2002), образование продуктов происходило в случае амплификации ДНК изолятов видов *A. alternata*, *A. tenuissima* и *A. arborescens* и не происходило у изолятов других видов *Alternaria*. Таким образом, эти праймеры можно рекомендовать для выявления в зерне всего комплекса токсигенных видов *Alternaria*. Однако остается актуальной необходимость развития исследований по идентификации токсинов и анализу их токсигенной активности в отношении человека и животных.

ФОРМА МИЦЕЛИЯ В ГЛУБИННЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАК РЕЗУЛЬТАТ АДАПТАЦИОННОГО ВЫБОРА САМООРГАНИЗУЮЩЕЙСЯ СИСТЕМЫ

Громозова Е.Н.

*Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины
Киев*

На основании значительного объема экспериментальных данных о физиолого-биохимических, энергетических особенностях нитчатого и пеллетного мицелия *Thielavia terrestris* (Apinis) Malloch et Cain, а также *Chaetomium globosum* Kunze et Fr., *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) de Vries и др., а также результатов изучения действия морфогенных факторов на ранних стадиях культивирования конидий, включая пул цАМФ, цГМФ, ионов кальция, характер электромагнитного излучения конидий в условиях различной направленности формообразующих процессов, действие агентов деполяризующих мембрану, исследование особенностей ультраструктуры конидий и сил молекулярного взаимодействия с помощью атомно-силового микроскопа, расчетов электростатического взаимодействия конидий и степени гидрофилизации их поверхности — делается вывод об адаптивной природе формообразующих процессов в условиях глубинного культивирования грибов. Предлагается рассматривать пеллетную форму как ответ организма на неспецифический стресс.

Сравнительный анализ полученных нами данных и известных из литературы положений, позволяет расширить понятие «диморфизма» грибов, включив в него, кроме дрожжевой и гифальной, пеллетную форму, заменив его понятием полиморфизма вегетативных форм мицелия.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ИЗ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС

*Иванова А.Е.¹, Асланиди К.Б.², Карпенко Ю.В.³, Белозерская Т.А.⁴,
Жданова Н.Н.³*

*1 – Факультет почвоведения Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова, Москва*

*2 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Московская область*

3 – Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

4 – Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

В результате техногенной деятельности человека все больше количество источников ионизирующего излучения возрастает. Микроскопические грибы обладают высокой степенью устойчивости к такого рода стрессорным агентам. Об этом свидетельствует широкое разнообразие видов этих организмов в зоне отчуждения ЧАЭС. Целью работы было изучить связь фенотипических механизмов адаптации микроскопических грибов к постепенно повышающемуся содержанию H_2O_2 в среде с их радиорезистентностью, поскольку известно, что повреждающие эффекты действия ионизирующего излучения связаны с формированием активных форм кислорода (АФК).

При исследовании динамики роста мицелия грибов *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mucor hiemalis*, *Raecilomyces lilacinus*, выделенных из местообитаний с разным, уровнем радиоактивного загрязнения, под действием перекиси водорода. При исследовании динамики роста мицелия грибов *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mucor hiemalis*, *Raecilomyces lilacinus*, выделенных из местообитаний с разным уровнем радиоактивного загрязнения, под действием перекиси водорода (10^{-9} – 10^{-1}M) было выявлено, что штаммы из загрязненных радионуклидами территорий сохраняли способность к росту при высоких концентрациях H_2O_2 (10^{-2} – 10^{-1}M), превышающих на порядок концентрации, которые вызывали остановку роста грибов из зон с фоновым уровнем радиоактивности. Важно, что у этих видов сохраняется высокая резистентность к высоким концентрациям перекиси водорода в течение длительного времени (более 15 лет в 30 и более генерациях). Всем микроскопическим грибам из зоны отчуждения ЧАЭС присуща морфологическая особенность – агрегированный рост гиф, тогда как у грибов из экотопов с фоновым уровнем радиоактивности агрегированным ростом обладал лишь *S. Cladosporioides* 396, характерным свойством которого является низкая скорость роста.

Выявлено три типа ростовых реакций грибов на действие перекиси водорода: 1 – стабильный характер роста при концентрациях H_2O_2

10^{-9} – 10^{-4} М и последующее снижение скорости удлинения гиф при концентрации 10^{-3} М; 2 – постепенное замедление роста при возрастании концентраций H_2O_2 в среде; 3 – ускорение роста при 10^{-7} – 10^{-5} М H_2O_2 . Меланинсодержащие виды (*Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*), обладали всеми тремя типами реакций, тогда как не содержащий меланина *Racilomyces lilacinus* – только первым. Концентрация 10^{-1} М была летальна для всех исследованных грибов. Наибольшую устойчивость к действию перекиси водорода проявили штаммы вида *A. alternata*, а среди них – штамм *A. alternata* 56, выделенный из зоны отчуждения Чернобыльской АЭС, характерным признаком которого был агрегированный рост гиф.

Радиационная адаптация – фундаментальный биологический феномен, реализующийся как *in vivo*, так и *in vitro* и свойственный всем живым организмам от бактерий до млекопитающих. Формирование адаптивных систем в клетках микроскопических грибов, проявляющих резистентность к ионизирующему излучению, является целью дальнейших исследований.

О ПОЛИМОРФИЗМЕ КУЛЬТУР ГРИБОВ РОДА COCCIDIOIDES

Лесовой В.С., Гришина М.А., Липницкий А.В.

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

Грибы, в том числе возбудители особо опасных микозов, обладают выраженным полиморфизмом. Внешний вид культур различных штаммов этих грибов и их микроморфология зависят от состава питательной среды, температуры и длительности инкубации, инсоляции и даже времени года. Применительно к возбудителям особо опасных микозов, ввиду значительного антигенного сходства, предпринимались попытки их дифференциации внутри одного рода по морфологическим, физиологическим или экологическим особенностям.

Из представителей особо опасных микозов лишь возбудители кокцидиоидомикоза (*C. immitis* и *C. posadasii*) способны расти при 41°C как в естественных (почва), так и в лабораторных условиях в частности на среде с высокими содержанием боратов, и усваивают в качестве единственного источника углерода глюкозу, а азота – соли аммония. Главной особенностью возбудителей кокцидиоидомикоза является их способность конверсировать *in vivo* в тканевую (паразитическую) форму – сферулы, однако попытки получения сферул *in vitro*, идентичных тканевым, на какой-либо стандартной питательной среде до сих пор не увенчались успехом.

Нами проведено изучение морфологических особенностей различных штаммов *C. immitis* и *C. posadasii* путем выращивания их при 28°

и 41°С на стандартной среде Сабуро, на ней же с содержанием 0,2% натрия тетраборнокислого и на агаре Сабуро с глюкозой и ацетатом аммония в качестве единственных источников углерода и азота. Оценивали и способность конверсии штаммов *in vitro* в сферулы. Для этого их выращивали при 37°С на сердечно-мозговом бульоне, в качестве контроля использовали бульон Сабуро.

Из изученных 25 штаммов грибов рода *Coccidioides* 11 принадлежали к виду *C. immitis* и 14 — к виду *C. posadasii*. Анализ данных по макроморфологии культур, выращенных на агаре Сабуро при 28°С, показал, что все они хорошо растут на этой среде, по различные штаммы отличаются по скорости роста, выраженности воздушного мицелия, цвету колоний. Микроскопия взвесей гриба показала наличие групп штаммов, отличающихся по продукции артростпор (артроконидий), которая составляла 80% от биомассы гриба в I группе, до 50% — во II-й и до 30% в — III. Имелись различия в толщине мицелия и форме артростпор.

Добавление в агар 0,2% буры влияло на эффективность роста. При этом у 3-х штаммов он был крайне скудным, у 10 угнетенным, а у остальных не изменился. Бура оказывала негативное влияние на выраженность воздушного мицелия всех штаммов. Он становился короче и приобретал желтовато-коричневую окраску у 5 штаммов отмечен рост по «коремиальному типу» — иглообразные выросты на поверхности сероватых колоний. При микроскопии всех штаммов выявлено истончение мицелия и снижение продукции артростпор. Штаммовые различия заключались в том, что у отдельных культур мицелий был сильно вакуолизирован и распадался на фрагменты палочко- и кокковидной формы.

На среде Сабуро с глюкозой или ацетатом аммония колонии представляли собой белую матовую пленку без воздушного мицелия или с отдельными куполообразными колониями, покрытыми тонким белым воздушным мицелием и редкими артростпорами.

При 41°С росли все штаммы *Coccidioides*, но рост воздушного мицелия был значительно угнетен и представлен короткими толстыми нитями септированного мицелия с немногочисленными квадратными артростпорами. Колонии приобретали различные оттенки коричневого цвета. В микропрепаратах десяти штаммов гриба отмечен только мицелий и его фрагменты, у остальных выявлено формирование разного количества сферулоподобных образований диаметром 6—15 мкм с зернистым содержимым, но без эндоспор.

Анализ данных по макро- и макроморфологии культур всех штаммов гриба, выращенных при 28°С на бульоне Сабуро, показал отсутствие значимых различий между ними. Все они в начальной стадии роста формировали ватообразные комочки в прозрачном бульоне. В дальнейшем появлялся поверхностный рост в виде пушистых колоний от белого до желтого цвета. В микропрепаратах обнаружен широ-

кий ветвящийся септированный мицелий с образованием различного количества артростор, отличающихся по величине и форме.

При выращивании на сердечно-мозговом бульоне при 37°C пять штаммов гриба уже через 14 сут формировали многочисленные незрелые сферулы размером до 15 мкм, но лишь у одного из них сферулы с признаками формирования эндоспор достигали размера 35 мкм.

В заключение следует отметить, что описанные различия в морфологии культур имели штаммовый, но не видовой характер. Они могут быть использованы в качестве дополнительных признаков при паспортизации музейных штаммов грибов рода *Coccidioides*, имеющих в коллекции Волгоградского научно-исследовательского противочумного института.

АДГЕЗИВНЫЕ И АТИГЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ *CANDIDA ALBICANS* ПРИ ПОВЕРХНОСТНЫХ КАНДИДОЗАХ

Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И.
Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии
Казань

Среди всех грибов наибольшее значение в клинической общетерапевтической практике имеют дрожжеподобные грибы рода *Candida*, в связи с их широким распространением и способностью в определенных условиях проявлять свой патогенный потенциал. Главным возбудителем поверхностных кандидозов является *Candida albicans*. Среди факторов патогенности *Candida albicans* большое значение имеют рецепторы адгезии к ряду белков человеческого организма, в том числе белкам крови, мышечных волокон, а также литические ферменты. Протеиназы *Candida albicans*, способные расщеплять различные белки с целью обеспечения гриба питательными веществами, помимо этого обладают аллергенными, антигенными свойствами, а также, в определенных условиях, ведут себя как адгезины. В связи с этим основное внимание было уделено двум факторам патогенности: адгезии, как первоначальному фактору инвазии, и количественному определению содержания маннопротеинового антигена (Ag) в клетках гриба. Эти характеристики могут варьироваться в широких пределах для различных штаммов, в частности, выделенных с кожи или слизистой.

В связи с этим представляет интерес провести сопоставление адгезивных и антигенных характеристик штаммов *Candida albicans*, полученных с кожи и слизистой. Адгезию штаммов оценивали с помощью модели полимерной пленки из нитрата целлюлозы с поверхностно иммобилизованными белками (коллаген, гемоглобин, альбумин, иммуноглобулин А). Концентрацию антигена (Ag) в культуральной жидкост-

ти и в дезинтеграте клеток оценивали с помощью амперометрического иммуноферментного сенсора. Метод основан на сочетании реакции образования иммунного комплекса Ат-Аг на поверхности биочувствительной части сенсора, в состав которой входят совместно иммобилизованные холинэстераза и антитела, с последующей вольтамперометрической индикацией сигнала.

По результатам исследования 126 штаммов выявлено, что фактор адгезии гриба зависит от места его локализации в организме, а также от уровня патогенности штамма. Максимальный процент адгезии (до 64%) отмечался у штаммов, выделенных из ротовой полости. У больных без явных признаков кандидоза процент адгезии в 4 раза меньше, чем в случае выраженного кандидоза: можно предположить, что в таких случаях выделенные культуры гриба *Candida albicans* не являются возбудителем заболевания, а свидетельствуют о кандиданоносительстве. При исследовании штаммов, выделенных с поверхности кожи, максимальный процент адгезии составил 37%.

Экспериментально установлена взаимосвязь между адгезией, количеством Аг и уровнем патогенности штамма. Наиболее патогенные штаммы содержат и выделяют в среду количество антигена в 30 раз большее, по сравнению с непатогенными штаммами (содержание в клетках $115,7 \times 10^{-10}$ и $0,99 \times 10^{-10}$ мг/мл соответственно; в среде 100×10^{-3} и $5,75 \times 10^{-3}$ мг/мл соответственно). При этом установлено, что для штаммов, выделенных из ротовой полости, чем выше процент адгезии, тем большее количество Аг выделяется в среду и содержится в клетках. В то же время при высоком проценте адгезии у штаммов, выделенных с кожи, количество Аг, выделяемого в среду, понижается, но возрастает количество Аг в клетках, что может быть связано с особенностями локализации и характера питания гриба. Таким образом, патогенность штаммов *Candida albicans* может быть охарактеризована совокупностью адгезивных и протеолитических свойств штамма с учетом места его локализации в организме.

ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В КОЛЛЕКЦИЯХ КУЛЬТУР

Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е.

*Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН
Москва*

Всероссийская коллекция микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина (ВКМ ИБФМ РАН) в течение ряда лет ведет работу по созданию базы данных о патогенных для человека, животных и растений видах грибов. Значительное вни-

мание при этом уделяется сбору и анализу информации о видовом разнообразии патогенных грибов, поддерживаемых в фондах микробных коллекций мира. Известно (Hawksworth, 2004), что зарегистрированное разнообразие видов грибов в коллекциях WFCC (World Federation of Culture Collection) составляет по приблизительным оценкам около 24000 видов. Проведение в ВКМ ИБФМ РАН инвентаризации мировых фондов коллекционных культур грибов позволило более точно определить степень их видового разнообразия. В группу грибов при этом были включены представители царств Chromista (Hyphochytriomycota, Labyrinthulomycota, Oomycota), Fungi (Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota) и Protozoa (Acrasiomycota, Mухомycota), традиционно поддерживающиеся в коллекциях чистых культур грибов. Общее количество видов грибов в каталогах коллекций, представленных в сети Интернет (включая WDCM – World Data Center of Microorganisms, <http://wdcm.nig.ac.jp/>), составило, по нашим данным (на 10.01.2006), 67875 наименований. Исключение повторяющихся названий и названий, написанных с искажениями, позволило оценить разнообразие видовых наименований грибов, поддерживаемых в коллекциях мира как 19160 видов и вариантов (Озерская, 2005а). При этом необходимо иметь в виду тот факт, что в разных коллекциях один и тот же вид может поддерживаться под разными наименованиями – синонимами одного вида. Эту проблему, возможно, удастся решить, создав в будущем базу данных, в которой будут учтены все синонимы поддерживаемых в коллекциях видов. При этом появится возможность оценить объем видового разнообразия коллекционных фондов грибов, учитывая только валидные виды, что приведет, по-видимому, к существенному уменьшению приведенного нами значения.

Общее разнообразие видов грибов, поддерживаемых в коллекциях мира, составляет, по нашим данным, чуть больше 5% от числа введенных в настоящее время в практику микологии видовых наименований, которое на 10.01.2006 соответствует 385350 виду и варианту (<http://www.speciesfungorum.org/Names/NAMES.ASP>). Большая часть этих названий в настоящее время не используется по различным причинам, в частности таким, как невалидное описание вида, перевод названия в синонимы уже известных, отсутствие доступного типового материала и другим. Известно, что ежегодно вводится до 800 новых видовых наименований и комбинаций, а соотношение ревизуемых видов к валидным составляет примерно 2,5:1 (Hawksworth, 1992; Dictionary of Fungi, 2001).

В процессе анализа данных нами впервые проведена оценка таксономического разнообразия патогенных грибов (от классов до видов) на основе максимально возможного перечня патогенов (более 400 видов), полученного путем сравнения имеющихся в литературе списков (Озерская, 2005б). Результаты позволили оценить и степень видового разнообразия фонда живых культур патогенных грибов, поддерживаемых

мого в коллекциях мира. Анаморфные виды грибов (Anamorphic fungi) отнесены к соответствующим таксонам сумчатых или базидиальных грибов соответственно.

Объем представляемого сообщения не позволяет привести все имеющиеся в нашем распоряжении данные, которые, естественно, могут быть действительными лишь на какой-то определенный момент времени. Информация будет и в дальнейшем обновляться в соответствии с появлением новых сведений о клинических случаях микозов. Было бы чрезвычайно полезно, чтобы подобная информация была доступна всем заинтересованным в ней специалистам в нашей стране в системе on-line. Благодаря этому российские микологи всех специализаций и, в первую очередь, медицинские микологи, могли бы получить возможность анализа собственной практики, руководствуясь обобщенным опытом многих специалистов.

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *CANDIDA ALBICANS*

Перунова Н.Б.

*Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН
Оренбург*

Грибы рода *Candida* относятся к условно-патогенной микрофлоре, населяющей организм человека и животных (Сергеев А.Ю., 2000, Darwazeh A.M., 1995, Hazen K.C., 1995 и др.). Присутствуя в биоценозе они взаимодействуют с другими видами условно-патогенных микроорганизмов и представителями нормофлоры, изменяя их факторы персистенции и вирулентности (Бухарин О.В., 2002). Описано явление бактериоциногении среди грибов рода *Candida* (Реброва Р.Н., 1985). Однако до сих пор открытым остается вопрос об антагонистической активности дрожжевых грибов в отношении условно-патогенных бактерий.

Целью работы явилось выявление антагонистической активности *C. albicans* в отношении некоторых видов условно-патогенных микроорганизмов.

Материалом для данной работы послужили штаммы дрожжевых грибов рода *Candida*, *Rhodotorula*, а также грамотрицательных (лактозодефективных и гемолитических кишечных палочек) и грамположительных (стафилококков) бактерий, выделенные из фекалий пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника. Выделение микроорганизмов осуществляли общепринятыми методами с использованием элективных и дифференциально-диагностических сред. Идентификацию бактерий и грибов проводили по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам. Антагонистическую активность изучали методом отсроченного антагонизма (P.Frederiq, 1966).

При перекрестном антагонизме среди грибов рода *Candida* был выявлен штамм *C. albicans* проявляющий антагонистическую активность в отношении всех исследуемых штаммов дрожжевых грибов. Далее мы изучали антагонистическую активность полученного штаммов против других видов условно-патогенных микроорганизмов. Было установлено, что исследуемая культура гриба проявляла антагонистическую активность в отношении 92,3% гемолитических и лактозонегативных кишечных палочек, 83,3% коагулазопозитивных стафилококков и всех штаммов грибов рода *Rhodotorula*. Диаметр зоны торможения вокруг штамма *C. albicans* было у кишечных палочек от 9 до 12 мм в диаметре, у стафилококков – 9,5–12 мм, у грибов рода *Rhodotorula* 8–10 мм в диаметре.

Таким образом, выявленный нами штамм *C. albicans* обладает достаточно широким спектром антагонистической активности и способен подавлять не только близкородственные виды грибов, но и некоторые виды условно-патогенных бактерий. Полученные данные расширяют возможность использования биологических препаратов на основе экзамеболитов грибов в качестве средств коррекции микрофлоры в целом при дисбиозе, для лечения дисбиотических нарушений, кишечных инфекций и других патологических процессов, вызванных грибами и условно-патогенными бактериями.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОРОВОГО АППАРАТА СЕПТ КЛЕТОК *ASPERGILLUS FLAVUS* LINK

Степанова А.А., Синицкая И.А., Авдеев Ю.Л.
НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина
Санкт-Петербургской Академии последипломного образования,
Санкт-Петербург

Приводятся данные по ультраструктуре септ и порового аппарата в ходе морфогенеза клеток вегетативного мицелия и конидиофоров у штамма *A. flavus* (описание штамма см. А.А. Степанова, И.А. Синицкая «Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus flavus* Link»). Выявлено, что клетки мицелия отделены друг от друга светлыми клиновидными септами, имеющими толщину у латеральной клеточной стенки 0,21 (0,19–0,23) мкм, а в средней части – 0,12 (0,09–0,13) мкм. В центре септ отмечается сквозная пора диаметром 0,16 (0,14–0,18) мкм, вблизи которой наблюдаются тельца Воронина (ТВ) в числе от 1 до 4. Наиболее часто встречаются септальные поры (СП), к которым было приурочено 4 ТВ. Последние окружены трехслойной мембраной, имеют плоско-гексагональную форму, небольшие размеры 0,18 (0,16–0,20)х0,06(0,04–0,09) мкм и гомогенное

содержимое умеренной электронной плотности. Как правило, ТВ локализируются на некотором удалении от септы, симметрично располагаясь относительно друг друга и СП. Крайне редко ТВ можно было встретить в содержимом септальной поры. По завершении роста и созревания клеток мицелия, помимо ТВ, в просвете СП появляются мелкие темные гомогенные пробки неправильной формы. В основании стеригм первого ряда зрелых конидиофоров *A. flavus* наблюдали светлую клиновидную септу, толщина которой вблизи латеральной стенки была равна 0,06 мкм, а в средней части – 0,03 мкм. Общий диаметр септы 0,79 (0,77–0,81) мкм, а ее сквозной поры – 0,11 (0,09–0,13) мкм. Вблизи таких СП, вплоть до завершения роста стеригм, ТВ отсутствовали. Они появляются с началом конидиогенеза обычно по одному, реже – по два, с каждой стороны септы. По завершении конидиогенеза ТВ вблизи таких септ исчезают, СП полностью закрывается темной гомогенной пробкой в форме шкива. Число, строение, размеры ТВ и пробок, а также динамика их поведения в ходе морфогенеза конидиофора были идентичными с СП, расположенными в основании стеригм первого ряда.

Таким образом, у *A. flavus* ТВ в составе порового аппарата септ отмечаются на протяжении всего периода развития клеток вегетативного мицелия и конидиофора, тогда как пробки наблюдали лишь на завершающем этапе их морфогенеза, – при переходе к старению.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОК ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ *ASPERGILLUS FLAVUS* LINK

Степанова А.А., Синуцкая И.А.

*НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина
Санкт-Петербургской Академии последипломного образования,
Санкт-Петербург*

Исследовали ультраструктуру зрелых клеток (ЗК) гиф вегетативного мицелия у патогенного штамма *A. flavus* из Российской коллекции патогенных грибов (РКПГФ – 954/5425) НИИ ММ им. П. Н. Кашкина СПб МАПО Росздрава, выделенного из биоптата подкожного абсцесса большого острым диссеминированным аспергиллезом. Культуру гриба выращивали на среде Чапека в термостате при 27°С, фиксировали по стандартной методике через 2, 3, 5, 10 и 20 дней после посева. ЗК воздушного мицелия слабо вакуолизированы, отличаются наличием электронно-плотного цитозоля, маскирующего ядра и другие компоненты клетки. В субстратном мицелии можно было различить пять типов ЗК гиф, которые имеют 4 слабо хроматизированных ядра, их размеры и форма зависели от типа гиф. Специфической особенностью тонкого

строения ЗК гиф четвертого типа было наличие стопок из большого числа цистерн ЭР, локализующихся вблизи ядер.

ЗК гиф первого типа имеют ядра эллипсоидной (3,6x3,0 мкм) формы. Вакуолизация клеток сильная; митохондрии в небольшом числе, мелкие (0,2–0,3 мкм), округлой формы, запасные вещества отсутствуют. У ЗК гиф второго типа ядра (4,2 мкм) лопастной формы, вакуолизация слабая, митохондрии встречаются редко, мелкие (0,4–0,6 мкм), округлой или эллипсоидной формы, запасные вещества в форме липидных включений. ЗК у гиф третьего типа отличаются наличием ядер неправильной формы (2,0 мкм), средним уровнем вакуолизации, большого числа крупных (0,5–2,8 мкм) митохондрий разнообразной формы, обилием запасных веществ в форме розеток гликогена. Ядра (1,6 мкм) у ЗК гиф четвертого типа имеют слегка неправильный контур. ЗК гиф этого типа слабо вакуолизированы и содержат умеренное число мелких (0,3–0,4 мкм) митохондрий округлой формы. Доминирующее положение в клетке занимают запасные вещества в виде крупных липидных включений и розеток гликогена. И наконец, у ЗК гиф пятого типа наблюдаются ядра эллипсоидной формы (2,0x1,1 мкм). Уровень вакуолизации клеток средний, митохондрии редкие, мелкие (0,2–0,4 мкм), округлой формы; запасные вещества в форме крупных липидных включений в цитозоле и мелких темных гранул полифосфатов в содержимом вакуолей.

ИСТОРИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ОСНОВНЫХ ВИДОВ ГРИБА РОДА *CANDIDA*

Суколин Г.И., Крипицер О.А.

Московское научное общество дерматологов и венерологов
им. А.И. Пospelова

Дрожжеподобные грибы широко распространены в природе. Известно более 500 видов этого гриба, более 30 видов могут быть патогенны для человека. В этой группе наиболее распространенными являются грибы рода *Candida*, вызывающие более 80% патологии человека, обусловленной дрожжеподобными грибами.

Candida albicans – наиболее распространенный вид дрожжеподобных грибов, выделенных от человека.

Впервые описан Robin в 1853 году под названием *Oidium albicans*. В 1923 году Berkhout этому роду дал название *Candida* (С.). *C. albicans* является сапрофитной флорой пищеварительного тракта человека, животных и птиц. Во внешней среде он обнаруживается только при заражении ее человеком, животными или птицами.

C. glabrata был изолирован в 1917 г. Anderson и назван как *Cryptococcus glabrata*. В 1938 г. Lodder & de Vries дали ему название

Torulopsis glabrata. С 1984 года род *Torulopsis* идентифицирован с родом *Candida*. Гриб составляет 10% (2-е место) дрожжеподобных грибов, изолированных от человека. В 14% случаев он присутствует в кишечнике, в 22% — в моче, особенно у женщин, в 9% — во влагалище.

C. famata был изолирован Saito в Японии в 1922 г. под названием *Torula Candida*. В 1934г. Lodder переименовал этот вид в *Torulopsis*, а в 1961г. Novak & Zsolt — в *C. famata*.

Гриб обнаруживается на поверхности кожи человека (6,3%) и считается одной из причин интертриго стоп.

C. guilliermondii был изолирован Castellani под названием *Endomyces guilliermondii* в 1912г. из мокроты больного бронхитом. В 1939 г. был описан Langeron & Guetta, а в 1966 г. Wickerham был отнесен к роду *Pichia*.

C. guilliermondii обнаруживается в воздухе, пищевых продуктах, воде, кишечнике и коже человека (8%). Считается одной из причин интертриго и онихий стоп.

C. inconspicua выделен Lodder & Kreger van Rij в 1952 г. под названием *Torulopsis inconspicua*. Гриб обычно выделяется в испражнениях больных. Его роль в патогенезе микоза не установлена.

C. kefir изолирован Castellani в 1911 г. под названием *Endomyces pseudotropicalis*, который Basgal в 1931 г. отнес к роду *Candida*. Этот гриб обнаруживается в ферментированных молочных продуктах, который на вымени коров может вызвать мастит. У человека обнаруживается на коже и слизистых в виде сапрофита в 1% случаев. Может быть причиной абсцесса легких и септицемии (4%).

C. krusei изолирован в 1910 г. Castellani на Цейлоне, к роду *Candida* был отнесен Berkhout в 1923 г. Около 1% патологии человека, вызванной дрожжеподобными грибами обусловлено *C. krusei*. Особенность гриба заключается в его устойчивости к флуконазолу.

C. lusitaniae изолирован в Португалии в 1959 г. Van Uden и Do Carmo-Sousa. Гриб выделяется в мокроте, кале, крови тяжелых соматических больных, обнаруживается в кишечнике домашних животных и птиц.

C. norvegensis изолирован в Норвегии Deitrichson в 1954 г. под названием *C. zeylanoides* var. *norvegensis*. Van Uden и Farinha в 1958 г., Leask и Yarrow в 1976 г. подтвердили принадлежность гриба к роду *Candida*. Гриб выявляется в мокроте и экскрементах соматических больных.

C. parapsilosis выделен Ashford в 1928 г. под названием *Monilia parapsilosis*. В 1932 г. его описали Langeron & Talice. Гриб является сапрофитом кожи и может вызвать микозы кожи и ногтей. Может быть причиной септицемии (21%) у ослабленных больных.

C. rugosa изолирован в 1917 г. Andersen под названием *Mycoderma rugosa*. Diddens & Lodder в 1942 г. отнесен к роду *Candida*. Гриб обнаруживается в молочных продуктах и воде.

C. sake изолирован в 1934 г. Saito & Ota под названием *Eutorulopsis sake* из дрожжей, используемых в Японии при изготовлении sake. Van

Uden & Buckley в 1970 г. идентифицировали гриб с родом *Candida*. Патогенность гриба не установлена.

C. tropicalis изолирован Castellani в 1910 г. под названием *Oidium tropicale*. Berkhout (1923) отнес его к роду *Candida*. Гриб составляет 4% всех дрожжеподобных грибов, изолированных от человека, является причиной микотической септицемии в 7% случаев, устойчив к 5-Флюороцитозину.

C. zeylanoides описан Castellani под названием *Monilia zeylanoides* в 1920 г. Langeron & Guerra (1938) отнесли его к роду *Candida*. Обнаруживается в кале и на коже человека. Может быть причиной микотической патологии человека (1%).

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛОЧНЫХ ДРОЖЖЕЙ *KLUYVEROMYCES MARXIANUS*

Сухотина Н.Н., Наумова Е.С., Наумов Г.И.

Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов
Москва

В настоящее время вид *K. wikenii* объединяет несколько таксонов-синонимов: *K. fragilis* (молочные дрожжи, способные сбраживать лактозу), собственно *K. wikenii* (природные штаммы, способные только ассимилировать или в редких случаях слабо сбраживать лактозу) и *K. wikenii*, неспособный усваивать лактозу. Мы провели молекулярно-генетический анализ дрожжей *Kluveromyces* различного географического и экологического происхождения. В работе были изучены 47 штаммов, выделенных в Европе, Америке, Африке и Южной Азии. Из них 13 штаммов изолированы из молочных продуктов, 4 – из млекопитающих, 15 – из природных источников, 8 – представляют собой госпитальные штаммы (из легких больного туберкулезом, пораженных миндалин, мокроты), 7 – эндемичные южноафриканские дрожжи из алкогольных ферментационных процессов. На основании рестрикционного анализа межгенного спейсера IGS2 рибосомальной ДНК с эндонуклеазой AluI все изученные штаммы были отнесены к виду *K. wikenii*.

Сравнительный анализ геномов дрожжей *K. wikenii* проводили с помощью мультигенного филогенетического анализа, используя нуклеотидные последовательности изменчивых районов рДНК (транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2, межгенные спейсеры IGS1 и IGS2) и ядерного гена ACT1, а также молекулярного кариотипирования. Несмотря на различное происхождение, все штаммы имеют практически идентичные последовательности ITS1 и ITS2 спейсеров рДНК. Количество нуклеотидных замен в этих участках не превышало 1–2 нуклеотидов, а вставки и делеции составляли не более 1–3 нуклеотидов. Это

свидетельствует о близком генетическом родстве изучаемых штаммов. Сравнительный анализ более изменчивых межгенных спейсеров IGS1 и IGS2 выявил значительные различия между штаммами *K. wikenii* как по длине этих участков, так и по их нуклеотидному составу. На основании анализа нуклеотидных последовательностей двух межгенных спейсеров рДНК и ядерного гена ACT1 изученные штаммы были разбиты на три группы. Первую группу составили культурные молочные дрожжи, штаммы, выделенные из млекопитающих, и медицинские изоляты. Во вторую группу вошли штаммы, изолированные из природных источников: почвы, растений и насекомых. Южноафриканские штаммы, выделенные из алкогольных ферментаций, сформировали третью группу. Кариотипический анализ выявил большое сходство молекулярных кариотипов штаммов, отнесенных нами ко второй и третьей группам. В то же время, среди штаммов первой группы обнаружен значительный полиморфизм кариотипических паттернов по числу и размерам хромосомных полос.

Таким образом полученные молекулярные данные свидетельствуют о существовании трех внутривидовых популяций дрожжей *K. wikenii*: 1) собственно «*marxianus*» – природные дикие дрожжи; 2) «*fragilis*» – культурные молочные дрожжи и медицинские изоляты; 3) «*wikenii*» – эндемичные дрожжи из алкогольных ферментационных процессов в Южной Африке. Принимая во внимание, что все изученные нами медицинские изоляты способны сбраживать лактозу, они, очевидно, происходят от молочных дрожжей.

НУКЛЕАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ХИЩНЫХ И ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ

Теплякова Т.В., Пучкова Л.И., Афонина В.С., Горбунова И.А.
Государственный Научный Центр Вирусологии и Биотехнологии
«Вектор», Кольцово, Новосибирская область

В последние годы расширяется поиск и исследование биологически активных препаратов с противовирусной активностью. В этом плане представляет интерес изучение ферментов нуклеинового обмена грибов и бактерий, отдельные виды которых секретируют значительное количество внеклеточных нуклеаз.

Грибы так же, как и бактерии, могут продуцировать как внутри, так и внеклеточные нуклеазы. Биохимические и физико-химические свойства нуклеаз грибов изучены слабо. Это связано не столько с меньшим их распространением, сколько с большими трудностями определения их активности, в ряде случаев с малой доступностью или отсутствием соответствующих субстратов.

Нами отработан метод скрининга внутриклеточных и выделяемых в среду нуклеолитических ферментов и проводится работа по поиску высокоактивных нуклеаз в грибах различных экологических групп.

Для данного исследования были взяты 2 вида нематофаговых грибов, грибы из рода вешенка (*Pleurotus*) и *Ganoderma lucidum*, известный лекарственный гриб.

В качестве субстрата использованы нуклеиновые кислоты животного происхождения. Для определения внутриклеточной нуклеазной активности биомасса грибов разрушалась на ультразвуковом дезинтеграторе в специальном буфере, центрифугировалась для освобождения от клеточных остатков, очищенный клеточный экстракт использовался для анализа.

В результате проведенных экспериментов установлено, что у нематофаговых грибов *Arthrobotrys oligospora* и *Duddingtonia flagrans* наиболее активны внутриклеточные нуклеазы.

Штаммы и виды дереворазрушающих грибов рода вешенка различались по своей активности продуцировать экзо – и эндонуклеазы. Своей способностью к синтезу внеклеточных ферментов выделялся только что выделенный из природных условий штамм вешенки №19, а внутриклеточных ферментов – культивируемый гриб *Pleurotus eryngii* (вешенка королевская).

Наилучшие результаты в данной работе были получены у гриба *Ganoderma lucidum*, который обладает, как внутриклеточной, так и внеклеточной нуклеазной активностью.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЛИПИДОВ НА ХАРАКТЕР РОСТА ДИМОРФНОГО ГРИБА *MUCOR LUSITANICUS* 12M

Фунтикова Н.С., Мысякина И.С.

*Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН
Москва*

Выявление причин диморфизма грибов и изучение влияния факторов внешней среды, индуцирующих дрожжеподобный рост у мицелиальных грибов, является одной из фундаментальных проблем современной микологии.

В свете последних публикаций о многофакторном влиянии липидов на морфогенез и дифференциацию как микро-, так и макроорганизмов, можно предположить, что вещества липидной природы, или изменение свойств мембран грибных спор в результате изменения состава фосфолипидов, являются одной из причин диморфизма. В литературе есть сообщения, что продукты метаболизма фосфолипидов – диацилглицерины (ДАГ), фосфатидная кислота (ФК) и лизо-ФК, являются мессен-

дженерами морфологических транзиций. Прекращение синтеза фосфолипидов, вызванное добавлением ингибитора синтеза жирных кислот церуленина, явилось причиной диморфизма у *Mucor racemosus*. Состав спор и условия их формирования оказывают существенное влияние на развитие мицелиальных грибов, в частности, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*, *Mucor lusitanicus*. В связи с этим были предприняты исследования влияния экзогенных липидов разного происхождения, выделенных из старых спор, а также других грибных липидов и липидов питательного субстрата на морфологию прорастания спорангиоспор молодой культуры гриба *Mucor lusitanicus* 12М.

В качестве инокулята использовали спорангиоспоры, которые получали смывом с 4-суточной культуры, выращенной на пшеничных отрубях. В жидкую питательную среду вместе с суспензией спор добавляли экстракты липидов: 1) из пшеничных отрубей, 2) из подсолнечного жмыха, 3) из пшеничных отрубей с 20-суточным мицелием изучаемого гриба, оставшимся после удаления спорангиоспор, 4) из спорангиоспор 4-суточной культуры с отрубей, 5) из спорангиоспор 20-суточной культуры с отрубей, 6) из 3-суточного мицелия, выращенного на минеральной среде.

Результаты свидетельствуют о том, что экзогенные липиды разного происхождения существенно различались по влиянию на морфологию роста клеток гриба. Через 24 ч культивирования визуальные и микроскопические исследования показали, что в вариантах с добавками липидов из пшеничных отрубей и подсолнечного жмыха наблюдался мицелиальный рост, однако гифы мицелия были короткие, сильно разветвленные, со вздутиями и большим количеством хламидоспор. Внесение липидов из молодых спор вызывало образование на концах гиф цепочек артроспор, что обычно происходит не ранее чем на третьи-четвертые сутки после начала роста культуры. В вариантах 3) и 6), как и в контроле, мицелий был хорошо развит, дрожжеподобные клетки и артроспоры отсутствовали. При внесении в среду липидов из старых спор 20-суточной культуры наряду с деформированным мицелием в среде культивирования присутствовало большое количество дрожжеподобных клеток. К 72 ч роста культуры дрожжеподобные клетки исчезали, а в культуральной жидкости присутствовал только мицелий.

Особенностью липидов из отрубей и жмыха является высокое содержание свободных жирных кислот, которые могут негативно влиять на развитие мицелия, и значительную долю которых составляли ненасыщенные олеиновая и линолевая. Что касается влияния липидов спорангиоспор молодой культуры, то поскольку споры являются стадией, завершающей цикл развития гриба, возможно, что в их составе содержатся сигнальные вещества липидной природы, подобные фактору D, который образуется в конце развития микробных культур. Подобные ауторегуляторы могут являться сигналом для начала образования артроспор на гифах вегетативного мицелия.

Особый интерес представляют данные о влиянии на морфогенез липидов из спор старой культуры, которые вызывали дрожжеподобный рост гриба. Результаты исследования позволяют предполагать, что при старении культуры гриба при выращивании на отрубях в спорангиоспорах появляются сигнальные вещества липидной природы, вызывающие диморфизм гриба. Возможно, что влияние этих веществ, а не только изменения в структуре клеточной мембраны, являются причиной прорастания спорангиоспор стареющей культуры гриба *M. lusitanicus* в дрожжеподобные клетки. Тем не менее, вопрос о природе сигнальных веществ — ауторегуляторов остается открытым и требует дальнейшего исследования.

ОЦЕНКА ХАРАКТЕРА ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* И НЕКОТОРЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПОВЕРХНОСТИ ПЛОТНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

*Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Поспелова А.В.,
Чернов Ю.И.¹*

*Челябинский государственный университет
1 — Московский государственный университет*

Обитая на поверхности слизистых оболочек человека, грибы рода *Candida* вступают в различные взаимоотношения с другими микроорганизмами: представителями нормобиоты и условно-патогенными микробами. Характер этих взаимоотношений (агонизм/антагонизм/нейтралитет) зависит от многих факторов, в том числе и от видового состава биоценоза слизистой. Разные виды микроорганизмов могут, как стимулировать, так и подавлять рост и размножение грибов, адгезию к эпителиоцитам слизистой, образование ростовых трубок и т.д.

В микробных ассоциациях между разными видами возбудителей могут возникать сложные и неоднозначные взаимоотношения, что может существенно повлиять на характер инфекционного процесса.

В настоящее время недостаточно изучен вопрос какой вклад вносят различные микроорганизмы в формирование избыточной грибной колонизации слизистых оболочек (при совместной грибной и бактериальной колонизации).

Исходя из вышесказанного, целью данного исследования было оценить характер взаимодействия некоторых видов бактерий с *Candida spp.* при совместном культивировании в виде смешанного газона на поверхности плотной питательной среды.

Материалы и методы. В работе были использованы:

1. Культуры грибов рода *Candida*: а) вагинальные (n=5); б) оральные (n=3); в) природные (n=3); г) *Candida albicans* ATCC 10231; д) *C. albicans* ATCC 2091.

2. В качестве микробов-антагонистов использовали ATCC штаммы следующих микроорганизмов: а) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923;

б) *E. coli* ATCC 25922;

в) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Штаммы грибов поддерживались на плотной среде Сабуро; другие микроорганизмы – в полужидком агаре без ТТХ. Для каждого эксперимента использовались свежие 48-часовые культуры.

Для изучения характера взаимоотношений грибов рода *Candida* с другими микроорганизмами был выбран метод совместного культивирования на поверхности плотной питательной среды в виде смешанного газона, т.к. по нашему мнению эта модель наиболее адекватно отражает особенности взаимодействия микроорганизмов друг с другом *in vivo* на поверхности слизистых оболочек человека, где микробы находятся в тесном контакте друг с другом.

Для получения газона на поверхность плотной питательной среды (5% кровяной агар) одновременно засеивали один из вышеперечисленных видов бактерий в количестве 3×10^8 КОЕ/мл (1 McFarland) и один из изолятов *Candida spp.* в количестве 10^7 КОЕ/мл в виде смеси двух культур (по 10 мкл каждой). Посевы инкубировали в термостате 48 часов при 37°C.

Затем осуществляли количественный смыв физ. раствором всех выросших колоний с поверхности кровяного агара с последующим посевом 10 мкл взвеси на среду Сабуро (для определения количества выросших в ассоциации грибов).

Параллельно с этим проводили посев 10 мкл взвеси и на селективные среды соответственно используемому виду бактерий (среда Плоскирева – для *E. coli* и *P. aeruginosa*; ЖСА – для *S. aureus*).

Контролем служили пробы, содержащие только грибы или соответствующий вид микроорганизмов.

Результаты (см. таблицы):

1. Взаимодействие *Candida spp.* и *E. coli* ATCC 25922. Показано, что *E. coli* подавляет рост грибов, оказывая фунгицидный эффект (в опытных газонах отсутствовал рост кандид), не зависимо от источника выделения грибов. Сами грибы не оказывали никакого влияния на рост *E. coli*.

2. Взаимодействие *Candida spp.* и *P. aeruginosa* ATCC 27853. *P. aeruginosa* подавляет рост грибов, оказывая фунгицидный эффект, независимо от характера грибных изолятов. При этом грибы не влияют на рост *P. aeruginosa* (и в опыте, и в контроле рост в высоком титре – $10^7 - 10^{7.5}$ КОЕ/мл).

3. Взаимодействие *Candida spp.* и *S.aureus* ATCC 25923. Показано, что после 48-часовой инкубации в смешенном газоне количество грибов достоверно ($p < 0,001$) уменьшалось в среднем в 2 раза в сравнении с контролем. При чем наибольший ингибирующий эффект наблюдался в отношении природных и ATCC штаммов (уменьшение количества грибов в 2,8 и 3,5 раза соответственно). При этом грибы не влияли на количество высеваемого золотистого стафилококка.

Выводы. Предварительные результаты показали:

1. Наибольшую антагонистическую активность в отношении грибов рода *Candida* проявляют грамотрицательные бактерии (*E. coli* и *P. aeruginosa*), полностью подавляя рост грибов.

2. Выраженную антагонистическую активность при совместном культивировании проявляет и *S. aureus*: количество грибов в ассоциации меньше, чем в монокультуре, в среднем в 2,3 раза.

3. Степень проявления антагонизма в отношении грибов рода *Candida* не зависела от источника изоляции и вида грибов рода *Candida*.

Таблица 1
Взаимодействие *Candida spp.* и *E. coli* ATCC 25922

№	Вид <i>Candida</i>	Характер изолятов <i>Candida spp.</i>	Опыт*		Контроль**	
			<i>Candida spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Candida spp.</i>	<i>E. coli</i>
1	<i>C. albicans</i>	Влаг.	рн***	7,0	6,0	6,5
2	<i>C. albicans</i>	Влаг.	рн	7,0	7,0	6,5
3	<i>C. albicans</i>	Влаг.	рн	7,0	6,0	6,5
4	<i>C. albicans</i>	Влаг.	рн	7,0	7,0	7,0
5	<i>C. albicans</i>	Влаг.	рн	7,0	6,0	6,5
6	<i>C. tropicalis</i>	Корм РГМ	рн	7,0	7,0	7,0
7	<i>C. guilliermondii</i>	Почва	рн	7,5	6,5	7,0
8	<i>C. guilliermondii</i>	Имаго комара	рн	7,0	6,5	7,0
9	<i>C. albicans</i>	Рот.	рн	7,0	6,5	6,5
10	<i>C. albicans</i>	Рот.	рн	7,5	7,0	7,0
11	<i>C. albicans</i>	Рот.	рн	7,0	7,5	7,0
12	<i>C. albicans</i>	ATCC 10231	рн	7,0	6,0	6,5
13	<i>C. albicans</i>	ATCC 2091	рн	6,0	6,0	6,0
				7,0±0,1	6,5±0,2	6,7±0,1

* количество грибов или *E. coli* IgКОЕ/мл, выросших при совместном культивировании;

** количество грибов или *E. coli* IgКОЕ/мл в монокультуре;

*** роста нет.

Таблица 2
Взаимодействие *Candida spp.* и *P. aeruginosa* ATCC 27853

№	Вид <i>Candida</i>	Характер изолятов <i>Candida spp.</i>	Опыт*		Контроль**	
			<i>Candida spp.</i>	<i>P.aerugi- nosa</i>	<i>Candida spp.</i>	<i>P.aerugi- nosa</i>
1	<i>C.albicans</i>	Влаг.	рН***	7,0	7,5	7,0
2	<i>C.albicans</i>	Влаг.	рН	7,0	6,0	7,0
3	<i>C.albicans</i>	Влаг.	рН	7,5	7,0	7,0
4	<i>C.albicans</i>	Влаг.	рН	7,0	6,0	7,0
5	<i>C.albicans</i>	Влаг.	рН	6,5	7,0	6,5
6	<i>C.tropicalis</i>	Корм РГМ	рН	7,5	6,5	7,0
7	<i>C.guilliermondii</i>	Почва	рН	7,0	7,0	7,0
8	<i>C.guilliermondii</i>	Имаго комара	рН	7,0	6,5	7,0
9	<i>C.albicans</i>	Рот.	рН	7,5	7,5	7,0
10	<i>C.albicans</i>	Рот.	рН	7,5	7,0	7,0
11	<i>C.albicans</i>	Рот.	рН	7,0	7,5	7,0
12	<i>C.albicans</i>	АТСС 10231	рН	7,0	6,5	7,5
13	<i>C.albicans</i>	АТСС 2091	рН	6,0	6,0	6,0
				7,0±0,1	6,8±0,2	6,9±0,1

* количество грибов или *P.aeruginosa* IgKOE/мл, выросших при совместном культивировании;

** количество грибов или *P.aeruginosa* IgKOE/мл в монокультуре;

*** роста нет.

Таблица 3
Взаимодействие *Candida spp.* и *S.aureus* ATCC 25923

№	Вид <i>Candida</i>	Характер изо- лятов <i>Candida spp.</i>	Опыт*		Контроль**	
			<i>Candida spp.</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Candida spp.</i>	<i>S.aureus</i>
1	<i>C.albicans</i>	Влаг.	6,0	7,5	7,0	7,5
2	<i>C.albicans</i>	Влаг.	4,0	7,5	7,5	7,5
3	<i>C.albicans</i>	Влаг.	2,0	7,0	7,0	7,0
4	<i>C.albicans</i>	Влаг.	4,0	7,5	7,5	7,5
5	<i>C.albicans</i>	Влаг.	2,0	7,0	7,0	7,0
			3,6±0,7 ¹	7,3±0,1	7,2±0,1 ¹	7,3±0,1

6	<i>C.albicans</i>	Рот.	4,0	7,5	7,5	7,5
7	<i>C.albicans</i>	Рот.	4,0	7,0	7,5	7,0
8	<i>C.albicans</i>	Рот.	2,0	7,5	7,0	7,5
			3,3±0,7 ²	7,3±0,2	7,3±0,2 ²	7,3±0,2
9	<i>C.tropicalis</i>	Корм РГМ	2,0	6,5	7,0	7,0
10	<i>C.guilliermondii</i>	Почва	2,0	6,0	7,0	7,0
11	<i>C.guilliermondii</i>	Имаго комара	3,0	7,5	6,5	7,5
			2,3±0,3 ³	6,7±0,4	6,8±0,2 ³	7,2±0,2
12	<i>C.albicans</i>	АТСС 10231	2,0	7,0	7,0	7,0
13	<i>C.albicans</i>	АТСС 2091	2,0	7,0	7,0	7,0
			2,0±0,0 ⁴	7,0±0,0	7,0±0,0 ⁴	7,0±0,0
			3,1±0,3 ⁵	6,9±0,3	7,1±0,1 ⁵	7,2±0,1

* количество грибов или *S.aureus* IgКОЕ/мл, выросших при совместном культивировании;

** количество грибов или *S.aureus* IgКОЕ/мл в монокультуре.

1, 3, 4, 5 p<0,001; 2 p<0,005.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *CANDIDA ALBICANS* В УСЛОВИЯХ СО-КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С *LACTOBACILLUS* *PLANTARUM*

Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Поспелова А.В.
Челябинский государственный университет

Обитая на поверхности слизистых оболочек человека, грибы рода *Candida* вступают в различные взаимоотношения с другими микроорганизмами (представителями нормобиоты и условно-патогенными микробами). Известно, что в микробных ассоциациях между разными видами микроорганизмов могут возникнуть сложные и неоднозначные взаимоотношения, что может оказать существенное влияние, как на колонизацию слизистой, так и на течение инфекционного процесса.

Лактобациллы являются основными представителями нормальной микрофлоры влагалища здоровых женщин. Эти микроорганизмы часто применяются в лечебных целях, в т.ч. для лечения кандидозных кольпитов. Однако в ряде исследований наряду с фунгицидным и фунгистатическим эффектами, оказываемыми *LactoBacillus spp.*, показано их

полное отсутствие. Остается неясным, связаны ли эти различия с особенностями штаммов грибов и/или лактобацилл. Отсутствуют данные и по влиянию *Lactobacillus spp.* на адгезивную способность грибов рода *Candida*.

Целью данного исследования было оценить характер взаимодействия вагинальных и оральных изолятов *Candida albicans* с *Lactobacillus plantarum* №8P-A3, полученной из препарата «Лактобактерин сухой», который рекомендуется использовать при некоторых заболеваниях ЖКТ и женской половой сферы. Для достижения поставленной цели был выбран метод совместного культивирования на поверхности плотной питательной среды в виде смешанного газона, т.к. по нашему мнению данные условия культивирования наиболее приближены к условиям *in vivo*, когда разные микроорганизмы формируют на поверхности слизистой биопленку, находясь в тесном контакте друг с другом.

Материалы и методы. В работе были использованы 10 культур *C. albicans*, выделенных из влагалища женщин с различной генитальной патологией (кольпиты, эрозии), 3 штамма *C. albicans*, выделенных из ротовой полости больных кандидозом ротовой полости и два АТСС штамма: *C. albicans* АТСС 10231 и АТСС 2091.

Для каждого эксперимента свежие культуры грибов выращивали на среде Сабуро: 1 сутки при 37°С, 2–3 сутки – при комнатной температуре. Культуру *Lactobacillus plantarum* № 8P-A3 получали на лактобакагаре (инкубация при 37°С в течение 48 часов).

Для получения смешанного газона на поверхность плотной питательной среды (использовали специальную среду для выделения и культивирования лактобацилл – лактобакагар, г. Оболенск) одновременно засеивали по 10 мкл взвеси в физ. растворе *C. albicans* (107 КОЕ/мл) и *L. plantarum* № 8P-A3 (3×10^8 КОЕ/мл). Посевы инкубировали при 37°С в течение 48 часов. Затем осуществляли количественный смыв всех выросших колоний с последующим посевом 10 мкл на среду Сабуро по методу Lindsey.

Контролем служили пробы, содержащие только *C. albicans*.

Адгезивную способность культур *C. albicans* оценивали в системе «*C. albicans* – буккальные эпителиоциты» (*in vitro*) до и после совместного культивирования с *L. plantarum*. Определяли индекс адгезии (ИА) – среднее количество адгезированных грибов в пересчете на один эпителиоцит.

Результаты. Предварительные исследования показали:

1. В течение 48 часов инкубации в смешанном газоне при одновременном посеве *C. albicans* и *L. plantarum* количество высеваемых грибов не изменяется в сравнении с контролем (таблица 1) и не зависит от характера грибных изолятов (вагинальные, оральные или АТСС штаммы).

2. После совместного культивирования *C. albicans* и *L. plantarum* адгезия грибов к буккальному эпителию здорового человека снижается в 1,7 раза (до совместного культивирования ИА=4,3; после – ИА=2,5).

Таблица 1

№	Вид <i>Candida</i>	Характер изолятов <i>C. albicans</i>	Опыт*	Контроль**
1	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
2	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
3	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
4	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
5	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	6,5	7,5
6	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
7	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,0	7,5
8	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
9	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,0	7,5
10	<i>C. albicans</i>	Вагинальные	7,5	7,5
11	<i>C. albicans</i>	Ротовая полость	7,5	7,5
12	<i>C. albicans</i>	Ротовая полость	7,5	7,0
13	<i>C. albicans</i>	Ротовая полость	7,5	7,5
14	<i>C. albicans</i>	АТСС 10231	7,5	7,5
15	<i>C. albicans</i>	АТСС 2091	7,0	7,0
			7,3±0,1	7,4±0,1

* количество грибов IgKOE/мл, выросших при совместном культивировании с лактобациллами;

** количество грибов IgKOE/мл в монокультуре.

Выводы. 1. На поверхности лактобакагара *Lactobacillus plantarum* № 8P-A3 и *Candida albicans* образуют смешанный газон, в составе которого лактобациллы не проявляют антифунгальную активность. Возможно, лактобациллы могут оказать фунгицидный эффект только при их большем численном превосходстве, что следует учитывать при назначении препаратов, содержащих лактобактерии, для лечения кандидозного поражения слизистых.

2. Снижение адгезивных свойств *C. albicans* к эпителиоцитам после совместного культивирования с *Lactobacillus plantarum* позволяет предположить наличие между ними конкурентных свойств за сайты связывания с клетками эпителия.

Глава 2

МИКОЭКОЛОГИЯ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА. ГРИБЫ В АНТРОПОЦЕНОЗАХ И НООСФЕРЕ

МИКОДЕСТРУКТОРЫ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА – УГРОЗА ЗДОРОВЬЮ ЧЕЛОВЕКА

*Абрамян Дж.Г., Нанаголян С.Г., Элоян И.М., Шахазизян И.В.,
Оганесян Е.Х.¹*

*Ереванский государственный университет, кафедра ботаники
Ереван, Армения
1 – Клиническая больница N3
Ереван, Армения*

Создаваемые человеком материалы и изделия включаются в естественные биоценозы и вовлекаются в процессы, протекающие в биосфере. Реакция окружающей среды и, в частности живых организмов, на объекты антропогенного происхождения весьма часто приводит к нежелательным изменениям их структурных и функциональных характеристик, т.е. к биоповреждениям, в сущности являющейся эколого-технологической проблемой (Ильичев, 1978). Доминирующее положение, по сравнению с другими агентами биоповреждений, занимают микромицеты-деструкторы, обитающие в почве, откуда они переносятся в воздух, легко обрастают и адаптируются на различных материалах.

Стремительный научно-технический прогресс, рост современного производства и, в связи с этим загрязнение окружающей среды, способствует возникновению агрессивных популяций грибов с высокой степенью эврибионтности.

Ввиду значительного ущерба, наносимого микромицетами-деструкторами библиотечному фонду, проблема их биоповреждения за последние десятилетия стала предметом специальных исследований в Армении. Планомерно проводимые микологические обследования книг и рукописей в книгохранилищах Матенадарана (1986–2005 гг.), в библиотеках городов и сел ряда марзов (районов) Армении (Арагацотнский, Араратский, Армавирский, Гегаргуникский, Котайкский) выявили значительное число видов грибов, приспособившихся к обитанию на бумаге.

Выделение микромицетов с пораженных рукописей и книг на питательные среды (Чапек-агар, сусло-агар) осуществляли методами прямого отсева с помощью игл, отпечатков, а также переносом частиц бумаги, легко отделяющихся с пораженных тканей. Видовой состав микобиоты воздуха выявлялся седиментационным методом. В определенных экологических условиях комплексы микромицетов выявлены по их структуре.

Результаты микологических анализов показали, что особо пострадали книги, хранившиеся в помещениях, где воздух был загрязнен жизнеспособными спорами грибов, где вследствие стихийных бедствий (наводнения, землетрясения) усугубились и вовсе не поддерживались

требуемые санитарно-гигиенические условия и соответствующий гидротермический режим.

Несмотря на своевременное выявление микодеструкторов, колонизирующих рукописный фонд в государственном хранилище древних рукописей Матенадаране и тщательно выполняемые работы по их инактивации (1947–2005 гг.), необходимость проведения микологических исследований не утратили свою значимость. Основным источником заспорения как воздуха помещений, так и рукописей, которые в процессе естественного старения (более 27 тысяч старинных рукописей, относящиеся к V–XVIII вв., с ценнейшими историческими материалами по древней философии, математике, медицине, астрономии, алхимии, религии и др.) легко и быстро подвергаются обрастанию грибами, являются систематически доставляемые со всех концов мира уникальные рукописи, зачастую полностью пораженные грибами.

С книг и рукописей обследованных библиотек и хранилищ выделены в чистую культуру изоляты грибов, относящиеся к 154 видам из 39 родов, 11 семейств, 5 порядков, 4 классов.

Наибольшим количеством родов и разнообразием видов представлены семейства *Moniliaceae* (103 вида, 15 родов) и *Dematiaceae* (23 вида, 13 родов), значительно меньшее число видов микодеструкторов выявлено из семейств *Tuberculariaceae* (3 вида) и *Stilbaceae* (1 вид), относящихся к порядку *Hypohymyetales*, классу *Hypohymyetes*.

В составе микобиоты, поражающих бумагу, отмечены виды родов семейств *Mortierellaceae* (3 вида), *Mucoraceae* (10), *Thamnidaceae* (1), *Cunninghamellaceae* (1) порядка *Mucorales* класса *Zygomycetes*. Лишь одним родом, включающим 6 видов, представлено семейство *Chaetomiaceae* порядка *Sphaeriales* класса *Pyrenomyces*.

Результаты микологических анализов показали, что наибольшим количеством видов микодеструкторов отличается класс *Hypohymyetes* (130), затем *Zygomycetes* (15). Значительно меньшее число видов выявлено из классов *Pyrenomyces* (6) и *Coelomyces* (1).

Разнообразием видов, обитающих на бумаге представлены роды *Penicillium* (56 видов, что составляет 36,3% от общего числа выявленных видов) и *Aspergillus* (25 видов, 16,2%). От 4 до 7 видов включают роды *Mortierella*, *Acremonium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Mucor*. Остальные роды представлены одним или двумя видами. К числу последних относятся виды, изоляты которых выделялись с пораженных субстратов неоднократно.

Несмотря на различные климатические условия районов, где проводились микологические обследования библиотечного фонда, ряд выявленных видов микодеструкторов идентичен. Доминировали на бумаге в основном виды *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *Chaetomium elatum*, *Cladosporium herbarum*, *C. linicola*, *Fusarium oxysporum*, *Mortierella polycephala*, *Mucor racemosus*, *Penicillium canescens*, *P. purpurogenum*, *P. clavigerum*, *P. italicum*,

P. funiculosum, *P. duclauxii*, *Rhizopus stolonifer*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Stemphylium botryosum*, *Trichoderma viride*.

Следует отметить, что в районных библиотеках с высокой частотой выявлялись представители мукоральных — виды рода *Mucor*, а также *Cunninghamella echinulata*, *Thamnidium elegans*, *Zygorhynchus moelleri*. Весьма высок коэффициент встречаемости диаспор родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus* в воздухе исследованных помещений. Разнообразием видового состава отличалась микобиота воздуха в помещениях районных библиотек, в частности, в зоне землетрясений.

Значительное число видов, встречающихся на бумаге и в воздухе книгохранилищ, создает потенциальную опасность аллергических заболеваний, микозов и микотоксикозов. У сотрудников районных библиотек, не обладающих соответствующими знаниями о грибковых инфекциях, путях ее распространения и мерах профилактики, зарегистрированы симптомы бронхиальной астмы, носящий хронический характер, отеки и зудящая сыпь на руках, аллергические риниты и др. Последнее обстоятельство диктует необходимость осуществления комплекса мероприятий по своевременной диагностике возможных микотических инфекций. Полученные данные позволяют также выполнить мониторинговые исследования с целью получения достоверного материала, необходимого для планирования и организации мероприятий по обеспечению безопасности здоровья сотрудников и абонентов библиотек.

ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ И КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ СЕМ. *PYROGLYPHIDAE* В ЛАБОРАТОРНЫХ КУЛЬТУРАХ

Антропова А.Б.¹, Мокеева В.Л.², Чекунова Л.Н.², Биланенко Е.Н.²,
Желтикова Т.М.¹, Петрова-Никитина А.Д.²

1 — НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН

2 — МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет
Москва

В настоящее время во всем мире отмечается неуклонный рост числа аллергических заболеваний. Как при диагностике таких заболеваний, так и при лечении больных с помощью специфической иммунотерапии используются коммерческие аллергенные препараты. Анализ литературы и наши данные свидетельствуют о том, что в культурах клещей *Dermatophagoides pteronyssinus* и *D. farinae*, используемых в качестве сырья для производства клещевых аллергенов, развиваются плесневые грибы, достигая численности 10^8 КОЕ/г субстрата. Эти грибы могут влиять на качество клещевых аллергенов.

Цель работы – изучение динамики численности микромицетов в простых периодических культурах клещей сем. *Ryuglyphidae* – *D. pteronyssinus* и *D. farinae*, используемых в качестве сырья для производства клещевых аллергенов.

В среду культивирования (утильные волосы из электробритв), предварительно (за сутки) инокулированную *Aspergillus penicillioides*, вносили *D. pteronyssinus* и *D. farinae* по 50 и 200 экз./г субстрата (каждый вариант отдельно). Параллельно, без клещей, культивировали смесь *A. penicillioides*, *A. repens* и *Wallemia sebi* – доминантных видов для лабораторных культур пироглифид. Во всех вариантах опыта грибы вносили в концентрации 10^3 КОЕ/г субстрата. Культуры содержали в термостате при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха $75 \pm 3\%$. На протяжении всего эксперимента пищевой субстрат не добавляли, т.е. эксперимент проводили в простой периодической культуре. Продолжительность эксперимента – 37 недель. Микромицеты выделяли методом серийных разведений. Посев производили на среду Чапека и ксерофильную среду.

Характер кривых динамики численности *A. penicillioides* при совместном культивировании с другими микромицетами, а также в культурах с различными видами клещей и разной изначальной плотностью их заселения достоверно не отличался. Микромицеты проходили стадию лаг-фазы (4–6 недель), фазу экспоненциального роста (до 8-й–14-й недели) и плато (до 37-й недели). При совместном культивировании *A. penicillioides*, *A. repens* и *W. sebi* без клещей доминирующее положение занимал *A. penicillioides*, максимальная численность которого к 28-й неделе достигла порядка 10^{10} КОЕ/г субстрата, что на 3 порядка выше, чем у *A. repens* и *W. sebi*. При культивировании *A. penicillioides* с различными видами клещей и разной плотностью заселения клещей, концентрация микромицетов нарастала параллельно численности клещей. Максимальная концентрация пропагул микромицетов достигала порядка 10^8 – 10^9 КОЕ/г субстрата (на 14-й–28-й неделе), что на 1–2 порядка ниже, чем в культуре микромицетов без клещей. Во всех вариантах численность грибов оставалась на высоком уровне (10^7 – 10^9 КОЕ/г субстрата) до окончания эксперимента.

Динамика численности клещей зависела от их видовой принадлежности и начальной плотности заселения культуры. Так, культура *D. pteronyssinus*, заселенная клещами из расчета 50 экз./г субстрата, погибла в течение 3-х недель от начала опыта, в отличие от варианта с плотностью заселения в 200 экз./г субстрата, и в отличие от *D. farinae* с различной плотностью заселения. В культуре *D. pteronyssinus*, первоначальная численность которого составляла 200 экз./г субстрата, лаг-фаза длилась 9 недель, максимальная численность наблюдалась на 28-й неделе культивирования и составила 1829 экз./г субстрата. В случае *D. farinae* с начальной плотностью 50 экз./г субстрата лаг-фаза длилась 5 недель, а численность достигла максимума к 21-й неделе от

начала культивирования, составив 1871 экз./г субстрата. В культуре *D. farinae* с начальной численностью клещей 200 экз./г субстрата, по сравнению с *D. pteronyssinus* с той же начальной плотностью заселения, лаг-фаза длилась втрое короче (3 недели), а максимальная численность популяции была отмечена вдвое раньше (на 14-й неделе развития) и была на тысячу больше (2856 экз./г субстрата). После достижения максимума численность клещей во всех вариантах опыта резко снижалась. В заданных условиях клещи *D. farinae* развивались быстрее, чем *D. pteronyssinus*: лаг-фаза была короче, уровень максимальной численности достигался быстрее и был выше.

При совместном культивировании *A. penicillioides*, *A. repens* и *W. sebi* на утильных волосах из электробритв доминирует *A. penicillioides*. *A. penicillioides* может оказывать влияние на способность клещей *D. pteronyssinus* и *D. farinae* осваивать пищевой субстрат, на скорость развития популяции и уровень максимальной численности клещей. Подавления развития *A. penicillioides* клещами сем. *Pyroglyphidae* не установлено.

РОЛЬ СЕЗОННЫХ КОЛЕБАНИЙ ВЛАЖНОСТИ В МУЗЕЙНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ СТАРИННЫХ ЗДАНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ГРИБНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭКСПОНАТОВ

Богомолова Е.В.¹, Зароченцева И.А.², Кобякова В.И.³, Панина Л.К.²,
Первак В.Э.⁴, Погребникова И.Л.²

1 – Ботанический институт им. В.И. Комарова РАН

2 – Санкт-Петербургский государственный университет

3 – Военно-исторический музей Артиллерии, Инженерных войск
и войск Связи

4 – Российский Этнографический музей
Санкт-Петербурга

Нестабильность климатических условий, вызванная отключением отопительных систем в летний период, создает в залах и хранилищах музеев старинной постройки потенциальную опасность возникновения очагов грибной контаминации, способствует повреждению экспонатов и создает угрозу здоровью музейных работников.

Цель работы состояла в исследовании динамики повреждения модельных образцов тряпичной бумаги ручного отлива 1832 г. в период летне-осеннего сезона 2005 г. (июнь – октябрь) в отдельных помещениях двух музеев Санкт-Петербурга – Военно-историческом музее

Артиллерии, Инженерных войск и войск Связи (здание середины 19 в.) и Российском Этнографическом музее (конец 19 в.).

Образцы экспонировались в переносных мини-витринах в залах с различными условиями хранения. Относительная влажность воздуха в отдельных обследованных помещениях достигала 70% и выше, температура не превышала 25°C. Экспонирование образцов проводилось с начала июня до конца сентября с периодическим ($\Delta t=30$ сут.) изъятием части образцов для анализа. Контрольные образцы хранились в лаборатории в замкнутых контейнерах. При визуальном осмотре образцов после экспозиции в залах, как правило, макроскопических изменений поверхности не выявлялось во всех сериях опытов. Микроскопический анализ не всегда позволяет обнаружить грибной мицелий среди переплетения волокон бумаги. Поэтому для оценки скрытых повреждений образцы помещались в эксикаторы над зеркалом воды при температуре 24°C и выдерживались до полного развития грибных колоний. Для количественных оценок использовалась математическая модель логистического роста. Оценивалось время лаг-фазы, время достижения стационарной фазы и удельная скорость роста. Например, как показал эксперимент, после экспозиции образцов в течение первого месяца, лаг-фаза составляла около 14 дней, а достижение стационарной фазы наступало за время не менее 17–21 сут. В образцах, экспонировавшихся в залах 4 месяца, лаг-фаза сократилась до 1 сут., а стационарная фаза наступала через 2–4 сут. При этом число колониеобразующих единиц на поверхности образцов возрастало не более, чем в 1,3 раза.

Полученные данные позволили установить, что ускорению процесса биоповреждений в наибольшей мере способствует степень влагонасыщения образцов по сравнению с возрастанием заспоренности воздуха в экспозициях в летний период. Эти выводы обосновывают реальную угрозу появления макроскопических признаков биоповреждений на экспонатах, особенно склонных к влагопоглощению (бумага, дерево, ткань и пр), а также в местах возможной конденсации влаги.

Таким образом, предложенный метод позволяет проводить интегральную оценку микробиологического статуса помещений по обобщенным критериям. В результате проведенного обследования помещений двух музеев выявлено, что наиболее неблагоприятные условия хранения экспонатов создаются в зале №1 ВИМИВВС.

Работа была частично поддержана грантом Правительства Санкт-Петербурга № PD05-1.4-182.

ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

Васильев О.Д., Светлов Д.А.

Санкт-Петербургская Государственная Медицинская Академия им.

И.И. Мечникова

Плесневые грибы могут быть биодеструкторами строительных материалов внутри помещений, а также создавать угрозу для здоровья людей, вызывая аллергические заболевания, интоксикации, инвазивные процессы и так называемый «Синдром больного здания».

Целью исследования было изучение количественного и качественного состава плесневых грибов в воздухе, в отделочных материалах и на поверхностях 37 квартир Санкт-Петербурга в сопоставлении с состоянием здоровья проживающих.

Пробы воздуха брали прибором Кротова, пробы строительных материалов методом соскобов, с поверхностей делали смывы. Выделение и идентификацию плесневых грибов проводили стандартными методами. Для оценки состояния здоровья использованы специально разработанные анкеты, а также данные амбулаторных карт жителей 37 квартир г. Санкт-Петербурга, в воздухе и на внутренних поверхностях которых при микологическом обследовании были выявлены плесневые грибы.

Установлено, что наиболее широко распространены грибы рода *Penicillium* (50% квартир), *Mucor* (15%), *Scopulariopsis* (10%), *Aspergillus* (9%), *Cladosporium* (8%). Другими выделенными группами были *Alternaria*, *Cephalosporium*, *Paecilomyces*.

При обследовании в трети квартир санитарные условия оценены как удовлетворительные, в трети — как неудовлетворительные, остальные — как крайне неудовлетворительные. Наиболее типичными были следующие негативные факторы: плохая вентиляция помещений, протечки, высокая влажность в ванных комнатах, видимая микробная контаминация стен. Анкетирование выявило симптомы, характерные для, так называемого, «Синдрома больного здания»: головные боли, головокружение, кашель, затруднение носового дыхания, насморк, слезотечение. Раздражение конъюнктивы, зуд, аллергии. У 60% детей, проживающих в обследованных квартирах, выявлены проявления аллергии и астмы. Симптомы и жалобы усиливались в зависимости от длительности проживания — до 5, 10 и более 10 лет. По амбулаторным картам у проживающих были выявлены хронические заболевания верхних дыхательных путей, легких ЛОР органов, сердечно-сосудистой системы и аллергические заболевания.

Для предотвращения плесневой контаминации воздуха проведена обработка внутренних строительных материалов препаратом группы полигуанидинов «Тефлекс», изготовленным в Санкт-Петербургском ЗАО «Софт-Протектор» и зарегистрированным в качестве дезинфици-

рующего средства в 2004 г. После обработки количество клеток плесневых грибов и других микроорганизмов в строительных материалах уменьшалось в 100 000–1 000 000 раз.

Вывод: для предотвращения ингаляции клеток плесневых грибов в жилых помещениях рекомендуется проводить санитарно-технические меры, включающие обработку поверхностей полигуанидиновыми дезинфектантами типа «Тефлекс».

ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕННОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК (БАД) К ПИЩЕ НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ

*Григорьев А.М., Шевелева С.А.
ГУ НИИ питания РАМН
Москва*

Одним из важных аспектов санитарно-пищевой микологии является оценка микогенной опасности, которую может представлять тот или иной вид пищевой продукции. Вследствие этого, а также на основе полученных нами ранее данных о неблагоприятном действии на макроорганизм сравнительно небольших (1×10^3 КОЕ/г) уровней плесневой контаминации пищи был установлен гигиенический норматив по количеству плесеней для биологически активных добавок (БАД) на растительной основе. Норматив составляет 1×10^2 КОЕ/г и 1×10^3 КОЕ/г для БАД на растительной основе и для фиточаев соответственно. БАД на растительной основе могут быть подвергнуты контаминации структурами мицелиальных грибов, обладающих патогенным, токсигенным и аллергенным потенциалом, в том числе не нормируемыми в настоящее время токсическими контаминантами. Так, БАД к пище, изготавливаемые из подземных частей растений могут в значительной степени отличаться от БАД из надземной растительной массы, как по уровню контаминации, так и по видовому составу микроскопических грибов.

Однако, необходимо отметить, что данные об исследовании антифунгального действия технологических приемов, используемых при обработке растительного сырья для БАД крайне недостаточно. К тому же метод посева из разведений на среду Сабуро, являющийся общепринятым в настоящее время, не всегда может адекватно показать реальные уровни контаминации грибными структурами растительного сырья, вследствие особенностей культивирования грибов разных таксонов и механической иммобилизации грибных спор на поверхности корней и почвенных частиц.

Таким образом, учитывая возможность длительного приема БАД к пище, представляется актуальной оценка потенциальной опасности неблагоприятного воздействия структур мицелиальных грибов поступающих в организм человека при употреблении такой продукции; исследование уровня контаминации и видового разнообразия микромицетов, контаминирующих растительное сырье для БАД; совершенствование методической базы для санитарно-микологической оценки этой продукции. Нами проводится комплексная работа по указанным темам. В ходе этой работы была проведена санитарно-микробиологическая и микологическая оценка 349 образцов БАД на растительной основе.

Показано, что для БАД, подвергаемых достаточно глубокой технологической переработке (таблетированных, капсулированных, в виде сиропов и экстрактов), процент образцов, не отвечающих установленным регламентам невелик – 4,9%. Однако, при анализе только образцов фиточаев (всего 50 образцов) количество образцов с повышенным содержанием плесневых грибов увеличивалось почти в 4 раза – до 18%. Представляется важным тот факт, что 78% образцов БАД, содержащих повышенное количество плесневых грибов, не соответствовали гигиеническим нормативам и по другим регламентируемым микробиологическим показателям, таким как количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и наличие бактерий группы кишечной палочки. Это может свидетельствовать не только о большом исходном уровне споровой контаминации, но и о возможных нарушениях технологии при переработке, хранении и фасовке продукции.

В настоящее время в лаборатории санитарно-пищевой микробиологии и микроэкологии продолжается работа по изучению видовых характеристик микромицетов, контаминирующих, БАД на растительной основе и сырье для них, выявлению форм способных оказывать неблагоприятное воздействие на человека, оценке возможности развития токсигенных форм и накопления в этой продукции токсичных метаболитов.

ХАРАКТЕР ФОРМИРОВАНИЯ ГРИБНОГО КОМПОНЕНТА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

*Дешева Е.А., Новикова Н.Д., Поддубко С.В.
ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН
Москва*

В процессе многолетней эксплуатации Международной космической станции (МКС) регулярно проводились исследования количественного содержания и видового состава микроорганизмов, формирующихся в обитаемых отсеках.

Состав грибного компонента микробного сообщества среды обитания космической станции отличался значительным разнообразием. Наибольшее число видов грибов было изолировано с поверхностей интерьера и оборудования станции 33 вида, тогда как в воздухе выявлено лишь 6 видов, что составляет соответственно – 97,0%, и 17,6% от общего количества видов грибов, обнаруженных в среде обитания МКС. Всего было обнаружено 34 вида грибов, относящихся к 2 таксонам, и 11 родам. При этом наибольшим видовым разнообразием характеризовались микромицеты родов *Aspergillus* и *Penicillium*, которые доминировали по частоте обнаружения как в пробах, взятых с поверхностей интерьера и оборудования, так и в пробах воздуха. В целом они достигали соответственно 19,7%–4,9% и 10,2 %–2,5% от общего числа отобранных проб.

Среди грибов, выделенных из среды обитания МКС, встречались виды микромицетов, относящиеся, по данным литературы, к условно патогенным, способным при определенных условиях и, прежде всего, на фоне индивидуальной резистентности к микроскопическим грибам, присущей здоровым людям, снижения иммунитета или развития иммунодефицитных состояний, а также изменений чувствительности организма к микромицетам, что встречается при длительном пребывании в замкнутых помещениях, вызывать различные патологические процессы у человека (аллергические заболевания, микозы и др.).

Следует отметить, что выявленные грибы – космополиты, встречаются на всех континентах, развиваются на органических субстратах, в почве и на растениях, споры их постоянно попадают в воздух. Длительный процесс строительства и дооснащения Международной космической станции, в котором принимают участие ряд стран, высокая насыщенность конструкций полимерными материалами создают условия и предпосылки для контаминации объекта грибами, а микроклиматические параметры среды обитания космической станции не являются лимитирующими для их развития. Среди микромицетов, выделенных из среды МКС, значительный удельный вес занимали плесневые грибы, известные, по данным литературы, как активные биодеструкторы материалов различного химического строения. Так, более 60% микромицетов, обнаруженных на внутренних поверхностях станции, способны участвовать в процессах биоповреждений полимерных материалов, а такие виды, как *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *Penicillium expansum*, *P. aurantiogriseum*, *Cladosporium herbarum*, *Cl. cladosporioides*, кроме того, являются потенциальными агентами биокоррозии металлов, выделяющими в процессе роста «агрессивные» продукты жизнедеятельности, за счет которых на поверхности металлов создаются коррозионно-агрессивные среды.

Таким образом, большинство видов грибов, обнаруженных на поверхностях Международной космической станции, относятся к гетеротрофам, способным активно развиваться на полимерных материалах

природного и искусственного происхождения, вызывая их биоповреждения, что заслуживает самого серьезного внимания в отношении возможности их экологической экспансии в замкнутом объеме длительно действующего космического объекта. Среди грибов также встречались «патогенные сапрофиты» – возбудители микозов и микроинтоксикаций, что свидетельствует о важности постоянного санитарно-микологического контроля за грибным компонентом микробного сообщества Международной космической станции.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ПОМЕЩЕНИЯХ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ ГОРОДА КИЕВА

*Жданова Н.Н., Суббота А.Г., Кондратюк Т.А., Захарченко В.А.,
Харкевич Е.С., Наконечная Л.Т.*

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного
НАН Украины*

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
биологический факультет, кафедра ботаники
Киев*

Проблемы, связанные с повреждением материалов микроскопическими грибами, приобретают чрезвычайно важное значение и остроту с точки зрения вопросов экологии городов. В формировании микобиоты города большую роль играют различные антропогенные факторы, в том числе разнообразные элементы городской инфраструктуры, развитие которой существенно нарушает геологическую структуру и влияет на микобиоту почв. Особого внимания заслуживают реконструируемые здания, объекты, возникающие на месте долгостроев (значительное время находящихся под влиянием атмосферных факторов), что отягощается, зачастую, нарушением технологии строительства и применением новых не грибостойких материалов, не соответствующих сертификационным требованиям в области качества, сроков и безопасности их эксплуатации и использования. Особое место принадлежит экстремальным ситуациям аварийного и поставарийного периодов. В последнее время микологические повреждения внутренних поверхностей закрытых помещений, в медицинском аспекте, становятся все более актуальными для города Киева.

Институт микробиологии и вирусологии им Д.К. Заболотного НАН Украины имеет многолетнюю и плодотворную историю изучения проблемы биоповреждений. С учетом реалий времени в Институте создана Испытательная лаборатория, которая сегодня курирует на Украине вопросы грибостойкости материалов, изделий и конструкций и защиты их от биоповреждений. Проблемы биоповреждений материалов микро-

скопическими грибами исследуются также на кафедре ботаники биологического факультета Киевского национального университета имени Тараса Шевченко.

В более чем в 20 обследованных помещениях города Киева исследование микобиоты воздуха проводили параллельно с выделением грибов-биодеструкторов из различных материалов внутренних поверхностей. Во всех случаях доминирующими были представители класса *Hyphomycetes*. По частоте встречаемости преобладали виды родов *Aspergillus*, *Acremonium*, *Penicillium* и *Cladosporium*.

Следует обратить внимание на недопустимость присутствия в жилых помещениях таких видов как *Stachybotrys chartarum*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *Acremonium strictum*, *Geotrichum candidum*, которые представляют угрозу для здоровья человека. Гриб *Stachybotrys chartarum* является продуцентом ряда токсинов и может вызывать геморрагическую пневмонию [Билай, Пидопличко, 1970; Андриенко, 1999].

Практически все обратившиеся за консультацией страдали аллергическими заболеваниями, бронхиальной астмой, туберкулезом или менингококковой инфекцией.

Необходимо способствовать предотвращению развития биоповреждений зданий и конструкций, особенно жилых, за счет применения грибостойких материалов согласно ГОСТ, строгого соблюдения технологий строительства, температурно-влажностного и санитарно-гигиенического режимов внутри помещений, что значительно оздоровит внутреннюю среду города.

УСЛОВНОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НА ВОСКОВЫХ ФОНОГРАФИЧЕСКИХ ВАЛИКАХ

Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Озерская С.М.
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрабина РАН,
Всероссийская коллекция микроорганизмов
Москва

В последние годы резко возрастает число видов микроскопических грибов, агентов различных микозов и микогенной аллергии. Между тем грибы постоянно присутствуют в ближайшем окружении человека. Являясь активными биодеструкторами, они колонизируют различные материалы, в частности музейные экспонаты, особенно при не соблюдении условий хранения. Для обеспечения безопасности здоровья музейных работников необходимо проводить оценку уровня грибной контаминации фондов.

Во многих музеях, библиотеках и архивах мира сохранились различные по объему коллекции фонографических валиков. В частности, коллекция Государственного литературного музея России (ГМЛ, Москва) насчитывает около 500 фоноваликов, возраст которых колеблется в районе 100 лет. В настоящее время активно начаты работы по перезаписи в цифровой форме на современные компьютерные носители информации аудиозаписей, хранящихся на восковых фонографических валиках, в связи с чем сотрудники музея постоянно контактируют с данным фондом.

Целью работы было определение степени контаминации фонографических валиков из коллекции ГМЛ жизнеспособными мицелиальными грибами и изучение видового состава выявленных микромицетов. Были исследованы также воздух помещений, в которых ведется работа с валиками, шкафы и картонные упаковки, где валики хранятся.

Была обследована случайная выборка из 18 валиков, разделенных на 2 группы по 9 на основании композиционного состава воска по цвету. Мицелиальные грибы были выявлены на 13 валиках (7 – светлый воск, 6 – темный воск). Таксономическое разнообразие грибов на валиках представлено 14 видами, из них 9 известны как агенты различных микотических инфекций. При этом, разнообразие грибов, выделяемых со светлого воска, почти в 2 раза выше, чем с темного (11 и 6 видов, соответственно).

Наиболее разнообразно представлены на валиках грибы рода *Penicillium* – 6 видов. Виды этого рода были выявлены на 11 валиках. Среди других обращают на себя внимание *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma harzianum*.

Все 100% исследованных образцов упаковки были контаминированы грибами. Уровень ее зараженности выше, чем восковых валиков. Всего были выявлены микромицеты 8 видов, в том числе *A. niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *P. variotii*, *Rhizopus stolonifer*. В воздухе исследованных музейных помещений количество микромицетов не превышало санитарной нормы и колебалось в пределах 50–80 КОЕ/м³.

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТИЕРИСТИКА МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ 4-ГО БЛОКА ЧАЭС

Карпенко Ю.В., Павличенко А.К., Жданова Н.Н.
Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины
Киев

Исследовали ряд ростовых параметров микроскопических грибов, поражающих стены 4-го блока ЧАЭС. Ранее было установлено, что такие грибы находятся в активном состоянии и образуют «пятна» диа-

метром от 1 до нескольких см. Таксономический список грибов, выделенных из помещений 4-го блока составляет 58 видов 25 родов 3 отделов митоспоровых грибов, *Ascomycota* и *Zygomycota*. Доминирующими были виды *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* и *Normosporis resiniae*. Были исследованы 11 штаммов видов *H. resiniae* и *C. sphaerospermum*, которые относятся к условно-патогенным грибам и являются аллергенами.

При определении ростовых параметров изученных штаммов было установлено, что скорость их радиального роста на агаризованных средах составляла 0,05–0,09 мм/час для штаммов *H. resiniae* и 0,01–0,05 мм/час для штаммов *C. sphaerospermum*, и не зависела от уровня радиоактивности помещений 4-го блока, из которых они были выделены. Исследованные штаммы росли на полноценной и лимитированной средах с достоверно одинаковой скоростью радиального роста. В то же время ветвление исследованных штаммов на разных средах достоверно различалось – разница по единице гифального роста составляла 10–140% для *H. resiniae* и 28–76% для *C. sphaerospermum*. По обобщающему показателю интенсивности освоения субстрата все изученные штаммы осваивали полноценную среду лучше на 34–95%, чем лимитированную по питательным веществам.

Накопление биомассы мицелия исследованных штаммов было разным на жидкой среде Чапека с различным содержанием глюкозы – 20, 1, 0,1 и 0 г/л. На среде с 20 г/л глюкозы штаммы *C. sphaerospermum* синтезировали 5–7 г/л сухой биомассы, а штаммы *H. resiniae* – 4–12 г/л. На других средах разница в количестве сухой биомассы исследованных штаммов была не достоверной, не зависела от вида и составляла 0,3–0,5 г/л.

При изучении морфологических особенностей исследованных штаммов на среде Чапека с внесением 20 г/л глюкозы наблюдали образование мицелиальных вздутий только у штаммов *C. sphaerospermum*. При росте в условиях недостатка источника углерода (с внесением 1 г/л, 0,1 г/л и 0 г/л глюкозы) у всех исследованных штаммов происходила редукция онтогенеза – конидии образовывались прямо на мицелии, минуя стадию образования органов спороношения. Кроме того, у штаммов *C. sphaerospermum* наблюдали образование «пустых» гиф.

В то же время штаммы *H. resiniae* проявили устойчивость к длительному голоданию (в течение 200 суток), что является весомым доказательством их принадлежности к экологической группе олиготолерантных грибов.

Таким образом, можно предположить, что изученные штаммы грибов реализуют К-тип жизненной стратегии, который характеризуется высокой устойчивостью к различным экстремальным нагрузкам (в том числе и радиационной) и низкой скоростью роста, а также обладают признаками олиготолерантности, т.е. способности расти и развиваться при низких концентрациях источника углерода в среде.

МИКРОМИЦЕТЫ В ЭКОСИСТЕМАХ, НАРУШЕННЫХ ЗОЛОТОДОБЫЧЕЙ

Куимова Н.Г., Жилин О.В.

Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН,
Институт геологии и природопользования ДВО РАН
Благовещенск

В последнее десятилетие в медицине возникла целая группа болезней, вызываемых условно патогенными микроскопическими грибами. Эта группа грибов может быть причиной так называемых вторичных микозов, т.е. инфекций, которые, как правило, поражают людей, страдающих различными формами иммунодефицита. Возбудителем вторичных микозов обычно являются дрожжевые грибы р. *Candida*. Однако в последнее время стало известно, что причиной таких заболеваний могут быть и мицелиальные грибы pp. *Aspergillus*, *Penicillium* (Muller, 1997). Закономерности распространения потенциально патогенных грибов во внешней среде до сих пор не установлены, поэтому необходимо знать: где, когда и какие оппортунистические грибы могут развиваться и сохраняться. Частота встречаемости таких микромицетов определяется чаще всего антропогенными факторами. Установлено, что при загрязнении почв тяжелыми металлами увеличивается обилие видов, устойчивых к токсикантам. Причем, некоторые из них являются возбудителями микозов легких (Левин и др., 1989; Marfenina, 1996), другие же являются аллергенами, вследствие выделения летучих веществ, токсичных для человека. В связи с этим, одной из важнейших задач современной медицинской микологии является изучение закономерностей распространения потенциально патогенных грибов во внешней среде.

Целью выполненных исследований явилось изучение комплекса микроскопических грибов в экосистемах, нарушенных в результате золотодобычи. Необходимо отметить, что около 43% территории Амурской области занимают площади, на которых в течение полутора веков в той или иной степени интенсивности ведется добыча металла. Негативное влияние на окружающую среду золотодобывающей промышленности проявляется в нарушении естественных ландшафтов, применении экологически небезопасных технологий (цианирования, амальгамирования), в результате чего происходит рассеивание тяжелых металлов в экосистемах.

Общий список микромицетов, выделенных из почв и пород рудных (Покровское, Токур, Кировское) и россыпных (Апрельское, Чагоянское) месторождений золота Амурской области, представлен 33 видами из 13 родов и 4 классов, включая два «вида» стерильных форм мицелия.

Класс *Zygomycetes* представлен 2 видами: *Rhizopus nigricans* выделен только из Покровского золоторудного месторождения, *Mucor circinelloides* — из Чагоянской и Апрельской россыпей.

Класс *Ascomycetes* также представлен 2 видами: *Eurotium pseudoglaucum* был выделен из Чагоянского месторождения, *Talaromyces luteus* изолирован из Кировского и Чагоянского месторождений.

Класс *Coelomycetes* представлен 5 видами из 2 родов. Наиболее широко представлен род *Phoma* (4 вида), род *Coniothyrium* представлен только одним видом. Нужно отметить, что все они были выделены из рудных месторождений, только *Ph. eurygena* встречался также в Чагоянском россыпном месторождении.

Наиболее многочисленным является класс *Hyphomycetes*, который насчитывает 24 вида из 7 родов. На первом месте по числу видов (13) и по частоте встречаемости стоит род *Penicillium*, представители которого составляют до 66,6 % от общего числа видов, выделенных из техногенных почв. Наиболее распространены *P. chrysogenum*, *P. paxilli*, *P. steckii*, *P. waksmanii*, встречается *P. nigricans*. Нужно отметить, что в составе сообщества микромицетов техногенно нарушенных земель Покровского полиметаллического месторождения преобладали представители р. *Penicillium*. В технологиях добычи золота здесь применяют цианирование.

Род *Aspergillus* представлен 5 видами *A. flavus* Link, *A. fumigatus* Fresen. *A. niger* Tiegh., *A. terricola* E.J. Marchal, *A. versicolor* (Vuill.) Tirab. В составе комплекса микроскопических грибов отработанных пород Апрельской россыпи доминируют представители р. *Aspergillus*, присутствуют виды известные как возбудители глубоких микозов человека (*A. niger*, *A. fumigatus* и *A. flavus*), отличающиеся высокой токсинообразующей способностью. С большей частотой эти виды встречались в породах Апрельской россыпи, где промышленная разработка месторождения проводилась с использованием технологии амальгамирования.

Исследование сообщества микроскопических грибов золоторудных месторождений и россыпей показало, что нарушение естественных ландшафтов в результате золотодобычи приводит к сокращению естественного видового разнообразия, но в тоже время увеличивается представительство условно патогенных видов и количество грибных спор в породе и околоземном слое воздуха.

На территории Дальнего Востока неспецифические заболевания легких являются ведущей патологией, отличающейся увеличением показателей роста заболеваемости (Луценко, 2000). Особенностью является высокий процент обнаружения грибковой инфекции *Aspergillus fumigatus* при бронхиальной астме на фоне почти полного отсутствия микромицетов при бронхиальном бронхите (Луценко, Бабцев, 1999). В связи с этим, для обеспечения безопасности населения необходимо проводить микологический мониторинг на территориях с повышенными антропогенными нагрузками с целью выявления локальных участков, содержащих условно патогенные виды микроорганизмов.

ВЛАЖНОСТЬ ТЕХНОГЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩАЯ РАЗВИТИЕ ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ И ИХ АССОЦИАЦИЙ

Лихачев А.Н.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Территории с нарушенными гидрологическими параметрами, а их только в Москве около 40% (Экология крупного города (на примере Москвы), 2001), может приводить к созданию в зданиях различного назначения благоприятных условий для развития микробиоты на техногенных материалах. Изначальная контаминация техногенных материалов и занос воздушными потоками микроорганизмов, с последующим их развитием и связанная с этим запыленность воздуха в жилых и производственных помещениях, может служить потенциальным источником проявления аллергических и респираторных заболеваний, что указывает на так называемый «синдром зараженных зданий» (Nelson, 1999). Среди организмов принимающих активное участие в заселении различных материалов и изделий, являются митотические виды грибов, обладающих высокой скоростью развития, комплексом ферментов, способствующих адаптации их к различным техногенным субстратам. Нарушение температурно-влажностного режима, подпитка влагой с субстратов при аварийных протечках и плохой гидроизоляции, физико-химические свойства материалов определяют возможность развития и формирования на них ассоциаций микробиоты. Основным условием развития грибов на подходящем субстрате является повышенная влажность воздуха, влагоемкость, гигроскопичность субстрата и активность воды (a_w) (Мирчинк, 1978). Влагосодержание субстрата, влияющая на интенсивность развития грибов, показывает суммарное количество воды в материале выраженное в процентах от массы абсолютно сухого материала. Данная характеристика включает как связанную, так и свободную воду субстрата. Связанная форма воды определяет свойства материала, а свободная определяет доступность воды для микроорганизмов. В связи с этим материалы одинакового содержания влаги, но различающиеся по доступности воды при прочих одинаковых условиях, будут повреждаться грибами не одинаково. Начало роста грибов на гигроскопических материалах происходит при таком влагосодержании когда появляется несвязанная вода.

Цель работы состояла в исследовании потенциальной возможности колонизации как отдельными видами микроскопических грибов, так и их ассоциациями разных типов обоев, картона, гипскартона, древесины сосны, древесностружечной плиты для установления их развития в меняющихся условиях влажности субстратов и относительной влажности воздуха.

В модельных опытах определено влияние влажности, влагоемкости и распределения воды за счет капиллярных сил на колонизацию и скорость обрастания микромицетами указанных материалов при постоянной подпитке их водой, а также культуральными жидкостями для выявления взаимного влияния биологической активности культур при формировании сукцессий. Тест-объектом служили штаммы: *Aspergillus niger* v. *Tiengh.*, *A. terreus* Thom., *A. flavus* Link:Fr., *Chaetomium globosum* Kunze, *Penicillium funiculosum* Thom., *Penicillium cyclopium* Westling, *P. brevi-compactum* Diereckx, *P. purpurogenum* Stoll., *P. chrysogenum* Thom., *Trichoderma viride* Pers.:Fr., *Trichoderma harzianum* Rifai, *Cladosporium herbarum* (Pers) Link., *Fusarium javanicum* Koorders., *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Fusarium sporotrichiella* Bilai, *Paecilomyces variotii* Bainier., *Stachybotrys chartarum* Hughes, *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Mucor* sp., *Ulocladium* sp., входящих в набор культур разных ГОСТ-ов для испытания грибостойкости материалов или обнаруженных в составе микобиоты воздуха.

В модельных опытах полосы материалов размером 350x200 мм помещали в цилиндры и после стерилизации наливали 100 мл стерильной водопроводной воды. Для определения влияния биологической активности каждой из культуральных жидкостей (КЖ) видов, вода заменена равным объемом КЖ с последующей инокуляцией субстратов другими тест-культурами. После установления равновесного состояния влаги полосы материала с обеих сторон инокулировали конидиальной суспензией каждым из видов тест-объектов из расчета 20 мл с титром — 108 пропагул/мл. Влажность, влагоемкость материалов в контроле и фрагментах полос определяли весовым методом, подъем капиллярной влаги — по уровню слабо подкрашенной метиленовой синью воды. При «сухом» способе инокуляции для определения влияния разной относительной влажности воздуха на развитие культур и освоение ими субстратов образцы накладывали на спороносящий газон колоний с последующим их помещением во влажные камеры (эксикаторы) с разным уровнем относительной влажности воздуха. Степень обрастания субстратов оценивали, учитывая среднюю площадь поражения грибами их поверхностей (в процентах) и дополнительно фиксировали стадию их развития по 6 бальной шкале. Токсичность культуральных жидкостей устанавливали на культуре *Paramecium caudatum*.

Материалы отличаются по влагоемкости, гигроскопичности и уровень подъема капиллярной влаги. Во всех случаях максимальный рост микромицетов наблюдается на первом сегменте, находящегося непосредственно выше уровня воды. По мере снижения насыщенностью водой на выше расположенных сегментах, пяти сантиметровых участках, развитие мицелия колоний заметно снижается, также как и интенсивность спороношения. На верхних сегментах с влажностью субстратов 15–20% создаются условия только для начального развития микромицетов. Для нормальной жизнедеятельности мицелия влажность субстрата

должна достигать не менее 40–50%. На образцах обоев с пластиковым покрытием и разной текстурой рост мицелия в ряде случаев отмечен только со стороны бумажной основы. В опытах с КЖ, имитирующих условия восходящей хроматографии, выявлен зональный рост грибов, с отдельными секторами ингибирования развития даже при высоком содержании влаги в субстратах. Наибольшая антибиотическая активность свойственна представителям родов *Aspergillus Penicillium*, *Trichoderma*, культуральная жидкость которых подавляла развитие других тест-культур. Наиболее четкое проявление ингибирования отмечено на первом сегменте субстратов.

На образцах древесины сосны на 5 сутки инкубации визуально отмечено слабое развитие мицелия отдельных видов, находящегося непосредственно выше уровня воды и начало спороношения на поверхности блока образцов. Вероятно, сказывается влияние исходной природной экологии – торофические ниши видов, определяющей приуроченность развития и частоту встречаемости на субстратах содержащих целлюлозу. В зависимости от скорости роста мицелия видов и влагоемкости древесины на 10 сутки отмечается неравномерность зарастания поверхности образцов и развития грибов на отдельных участках древесины. Плоскостные поверхности обрастают более равномерно. На торцах отмечена зональность роста грибов по годовым кольцам. Вероятно, различие в анатомическом строении «ранней и поздней», более рыхлой и более плотной, древесины сосны (при весеннем и позднем – летнем – осеннем развитии трахеид) определяют поступление влаги в ткани. Кроме того, трахеиды могут закупориваться тиллами, отрогами клеток древесной паренхимы, а сами полости трахеид заполняются живицей – раствором смол в эфирных маслах, что в естественных условиях развития приводит к прекращению их функции как проводящей системы, а при подпитке водой неодинаковое ее поступление в ткани. Этим, вероятно, можно объяснить неравномерность развития грибов на отдельных радиальных участках торцов и плоскостей древесины сосны. Инкубация зараженных тест-культурами «сухим» способом образцов в условиях разной относительной влажности воздуха, создаваемых насыщенными растворами солей в эксикаторах, выявила различную способность видов грибов осваивать субстрат в зависимости от относительной влажности воздуха. При относительной влажности воздуха ниже 40–50% прорастания конидий и развития грибов не отмечено. На образцах, находящихся при относительной влажности воздуха от 51 до 79% рост мицелия и формирование спороношения отсутствовали, либо были очень слабыми, а более интенсивное развитие всех тест-культур отмечено только при влажности более 90%. Вероятно, в этих условиях возможно образование водной пленки на поверхности и более интенсивное набухание образцов. Грибы обладают достаточно большой энергией для преодоления водоудерживающей силы субстратов. Вода облегчает поступление питательных веществ в клетки, и

в первую очередь, водорастворимых веществ. Наряду с этим, на скорость прохождения фаз онтогенеза, вероятно, сказывается «физиологическая зрелость» конидий и их густота при адгезии к субстрату при «сухом» способе инокуляции или наличии капельножидкой влаги при заражении суспензией. Микроскопический контроль скорости прорастания конидий при учете этих параметров выявил большое различие как в проценте их прорастания, так формировании мицелия и начала спороношения у разных видов. На 6-ые сутки от начала заражения отчетливо фиксируются отдельные пятна сформировавшихся пучков конидиеносцев *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma viride*. St. chartarum, P. cyclopium, A. terreus. Другие виды из взятого набора тест-культур не растут на данном субстрате или формируют слабое спороношение и в более поздние сроки. Визуальная и микроскопическая оценка степени обрастания образцов на 10–15 сутки в среднем достигает 2–3 баллов с отдельными участками развития мицелия и спороношения в 4 балла. Наболее быстрое начало формирования спороношения на 3–4 сутки характерно для *Aspergillus niger* и *Trichoderma viride*. На гипсокартоне интенсивное развитие этих же видов отмечено на самом картоне и участках гипса с повышенной влажностью. Замедленный темп развития практически всех тестов выявлен на древесностружечной плите, что, вероятно, связано с наличием в их составе формальдегидных смол.

Использование ассоциативной культуры, приготовленной из конидиальных суспензий тест-культур с разным их соотношением для инокуляции материалов, показало, что доминирующее положение на субстратах занимают быстрорастущие виды и обладающие антибиотическими или микопаразитическими свойствами. Инокуляция субстратов суспензией ассоциативной культуры выявляет весь спектр взаимоотношений между исследуемыми видами от нейтрального до разных форм проявления антагонизма. Протокооперация выражена менее четко и требует более детального исследования. Однако можно отметить стимуляцию прорастания конидий у одной из взятых пар культур, а также более интенсивное развитие на субстратах, пропитанных культуральными жидкостями. При низкой относительной влажности воздуха начинают превалировать ксеротолерантные виды *Aspergillus*. Это, вероятно, в дальнейшем может предопределять и концентрацию видов конидий в аэрозоле воздуха помещений. Наиболее четко это обстоятельство прослеживается при поражении определенными видами микромицетов естественных субстратов и связанных с этим увеличение риска профессиональных заболеваний у лиц, контактирующих с ними в период своей работы (Артамонова и др. 2000, Соболев, 2000). Не смотря на высокую токсичность КЖ видов *Aspergillus Penicillium*, *Fusarium Trichoderma* по отношению *Paramecium caudatum* следует использовать специальные методы тестирования, подтверждающие наличие сенсibilизации к данным и другим видам. Наряду с этим, большое

внутривидовое разнообразие у митотических видов грибов по целому ряду признаков и свойств определяет своеобразие структуры их популяций. В связи с этим и данные относительно численности пропагул тех или иных представителей разных видов в аэрозоле воздуха могут не иметь прямой корреляции с проявлением симптомов проявления микогенной аллергии (Ковзель и др., 2003; Beaumont et al, 1985; Tarlo et al., 1988). Проведенные исследования показали, что одним из ведущих факторов, определяющих развитие и доминирование отдельных видов и формирование ассоциаций микромицетов на техногенных материалах, является их физическая характеристика, определяющая содержание влаги, а также физиолого- биохимические свойства и взаимоотношения самих культур.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ВОЗДУХЕ МУЗЕЙНЫХ ФОНДОХРАНИЛИЩ

Митковская Т.И., Коваль Э.З.

*Национальный научно-исследовательский реставрационный центр
Украины,
Киев*

В последние годы медики и микологи обращают внимание на увеличение аллергических состояний и заболеваемости человека оппортунистическими микозами. Одним из важных моментов решения этой проблемы является выяснение возможных путей заражения (Марфенина, 2005). Поскольку обычной причиной инфицирования является вдыхание спор из воздуха окружающей среды, распространение оппортунистических грибов оценивают по их присутствию в помещениях. Возможными источниками заражения воздуха спорами потенциально патогенных и аллергенных грибов считаются: разрушенные внутренние поверхности помещений; количество и состав пыли внутри их; вентиляционные системы, кондиционеры и др. (Сергеева, 1992; Ребрикова, Мантуровская, 1994; Петрова-Никитина и др.. 2000).

Все это относится и к помещениям фондохранилищ музеев. Однако музейные здания имеют и некоторые отличия, способствующие концентрации в воздухе оппортунистических грибов. Фондохранилища музеев расположены чаще всего в малоприспособленных помещениях подвалов и полуподвалов, в зданиях с нарушенной гидроизоляцией, что приводит к повышенному влагосодержанию материалов стен и соответственно относительной влажности воздуха. Основной отличительной чертой фондохранилищ является наличие в них большого количества экспонатов из различных материалов, представляющих собой питательный субстрат для микроскопических грибов.

Изучение видового состава и количества микромицетов в воздухе проводили в фондохранилищах музеев Украины, расположенных в регионах с различными климатическими и экологическими условиями.

Для исследования видового состава грибов в воздухе применяли метод седиментации.

Выделено и идентифицировано 47 видов грибов, относящихся к 16 родам из подотделов Deuteromycotina и Ascomycotina. По количеству видов преобладали представители родов *Penicillium* (23) и *Aspergillus* (10). Виды этих же родов, а также рода *Cladosporium* доминировали по частоте встречаемости.

В основном микобиота воздуха обследованных музеев г. Киева, Львова и п. Коктебель состоит из видов с низкой частотой встречаемости. Сравнение видовых составов грибов показало, что между ними существуют достоверные различия (коэффициент Сьеренсена-Чекановского составлял 7–38%).

Наибольшим видовым разнообразием характеризовалась микобиота Национального художественного музея Украины (г. Киев) – 20 видов, среди которых по частоте встречаемости доминировали *Cladosporium cladosporioides* (35%), *Mucelia sterilia* (27%), *Penicillium cyclospium* (22%). Микобиота воздуха Государственного музея театрального, музыкального и киноискусства Украины (г. Киев) представлена 17 видами с преобладанием *Mucelia sterilia* (частота встречаемости 27%) и *Penicillium cyclospium* (18%). Из воздуха Национального музея Т. Шевченко (г. Киев) выделено 13 видов, доминировали представители рода *Penicillium*: *P. funiculosum* (частота встречаемости 43%), *P. chrysogenum*, *P. cyclospium*, *P. expansum* (частота встречаемости по 29%). Видовой состав микобиоты воздуха Государственного музея декоративно-прикладного искусства (г. Киев) насчитывал 6 видов при доминировании *Altetnaria alternata* (частота встречаемости 50%). В воздухе Национального музея во Львове из 10 идентифицированных видов преобладал *Aspergillus versicolor* с частотой встречаемости 40%. Из воздуха Дома-музея М. Волошина (п. Коктебель, Крым) выделено 12 видов, из которых чаще всего встречались *Penicillium fuscum* (частота встречаемости 77%), *Cladosporium cladosporioides* (31%), *P. frequentans* (23%). Видовой состав воздуха Дома-музея М. Волошина был наиболее специфичным: *Penicillium fuscum*, *P. lividum*, *P. purpurogenum*, *Ulocladium Alternariae* – были характерны только для этого музея, что может объясняться как географическим расположением, так и только что проведенным ремонтом с использованием современных строительных материалов.

Численность микромицетов в воздухе фондохранилищ существенно отличалась и составляла в хранилищах Национального художественного музея Украины 0–56 КОЕ/чашку Петри; в хранилищах Государственного музея театрального, музыкального и киноискусства Украины 0–21 КОЕ/чашку Петри; в хранилищах Национального музея Т. Шевченко 7–23 КОЕ/чашку Петри; в хранилищах Государственного музея

декоративно-прикладного искусства 0–9 КОЕ/чашку Петри; в хранилищах Национального музея во Львове 0–5 КОЕ/чашку Петри; в помещениях Дома-музея М. Волошина 6–29 КОЕ/чашку Петри.

Подходы к определению безопасных норм содержания КОЕ грибов в воздухе очень различны, гостированные нормы по количественным показателям заспоренности воздуха помещений отсутствуют. Предлагаемый допустимый уровень числа КОЕ в воздушной среде отличается на порядок (Нюкша, 1994; Мантуровская, 1995; Богомолова и др., 2002). Поэтому использовать только количественные показатели без таксономического состава и степени патогенности для оценки санитарного состояния не достаточно (Митковская, Коваль, 2004).

Как свидетельствуют полученные результаты, структура видового состава аэрокомплексов характеризуется наличием условно-патогенных микромицетов. К группе BSL 1 относятся: *Altrernaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *A. niger*, *A. restrictus*, *A. sydowii*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Trichoderma viridae*; к группе BSL 2: *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Scopulariopsis brevicaulis*.

Выявление этих видов грибов в помещениях, где находятся сотрудники музеев и проходят экскурсии, требуют специальных мероприятий по обеззараживанию, постоянного контроля параметров микроклимата (в первую очередь температуры и относительной влажности воздуха), микологического мониторинга помещений музеев и объектов хранения.

ЛОЖНАЯ И НАСТОЯЩАЯ МУЧНИСТАЯ РОСА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АРМЕНИИ

Осипян Л.Л.

*Ереванский государственный университет
Армения*

Заготовка лекарственных растений предполагает сбор абсолютно здоровых растений. Однако этот процесс сопровождается массовым привлечением сборщиков недостаточно осведомленных о факторах, снижающих качество лекарственного сырья. Один из таких факторов – грибное поражение растений. Признаки микотического заболевания растений не всегда бывают резко выражены и часто остаются незамеченными. Между тем известно, что большинство грибов обладают способностью образовывать токсины. Микотоксичность хорошо изучена у сапротрофов и факультативных паразитов. Она не отрицается и у облигатных паразитов, несмотря на то, что у последних микотоксичность пока изучена слабо. К числу таких заболеваний относятся ложная и настоящая мучнистая роса.

Возбудители ложной мучнистой росы (пероноспороза) – пероноспоровые грибы (класс *Oomycetes*), по своему воздействию на филлопласту зеленых растений причисляются к биотрофным облигатным паразитам. Пораженные участки листьев теряют зеленую окраску, становятся хлоротичными и лишь впоследствии, подвергаясь некрозу, буреют. Симптомы болезни при массовом сборе лекарственных трав часто не привлекают внимание сборщика поскольку проявляются выраженнее с обратной стороны листовой пластинки, где формируются органы бесполого конидиального спороношения в виде более или менее заметного налета. При недостаточной влажности спороношение гриба быстро исчезает. Но оно может развиваться при плотном складировании сбора в неперфорированную тару, например полиэтиленовые мешки, создающую благоприятные увлажненные условия. Качество растений больных ложной мучнистой росой снижается за счет хлоротичности и усыхания пораженных участков, а также образования спороносного налета, безопасность которого весьма сомнительна.

В природных условиях Армении к числу наиболее поражаемых относятся крапива (возбудитель *Peronoplasmopara urticae* (Lebert) Savul.), хмель (*P. humuli* Miy. et Tak.), подорожник (*Peronospora alta* Fuck), белена (*P. hyoscyami* de Bary), лопух, одуванчик (*Bremia lactucae* Regel.) и др.

Образованию конидиального спороношения возбудителей ложной мучнистой росы способствует высокая относительная влажность воздуха и умеренно теплая температура. С учетом этого собирать лекарственные растения, восприимчивые к этому заболеванию, рекомендуется в сухую погоду.

Настоящая мучнистая роса, возбудители которой облигатные паразитные эризифовые грибы (класс *Ascomycetes*), появляется на наземных зеленых органах растений в виде беловатого, диффузного, мучнистого налета, который придает растению запыленный вид. При сильном развитии возможно усыхание листьев, побегов и образование плотных, белых дерновинок спороношения на плодах.

В Армении настоящей мучнистой росой поражаются более 60 видов лекарственных растений, включенных в фармакопейную статью.

К сильно поражаемым настоящей мучнистой росой относятся: пустырник, душица (возбудитель *Golovinomyces galeopsidis* (DC.) V.P. Gelyuta), лопух (*G. depressus* (Wallr.) V.P. Gelyuta), мята (*G. biocellatus* (Ehrenb.) V.P. Gelyuta), цикорий (*G. cichoraceorum* (DC.) V.P. Gelyuta), барбарис (*Microsphaera berberidis* (DC.) Lv.), донник (*M. trifolii*, *Erysiphe pisi* DC.) конский щавель (*Erysiphe polygoni* DC.), крапива (*E. urticae* (Wallr.) Blumer), хмель (*Sphaerotheca macularis* (Wallr.: Fr.) Lind).

С экологической точки зрения настоящие мучнисторосые грибы весьма разнообразны. Тем не менее они встречаются больше в засушливых, чем во влажных условиях. Пик развития болезни совпадает чаще всего с последней фазой цветения растения. Во избежание снижения качества лекарственного сырья собирать его необходимо до поражения настоящей мучнистой росой.

РОЛЬ ГИПЕРПАРАЗИТНЫХ ГРИБОВ РОДА AMPELOMYCES CES. EX SHLECHT. В ОГРАНИЧЕНИИ МУЧНИСТОРОСЯНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Пузанова Л.А.

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский
институт садоводства и виноградарства
Краснодар

Среди заболеваний различных сельскохозяйственных культур особой вредоносностью выделяется мучнистая роса. В естественных условиях значительное влияние на снижение плотности популяции ее возбудителей оказывают гиперпаразиты рода *Ampelomyces*, развивающиеся преимущественно в мицелии и конидиальном спороношении гриба-хозяина.

Многочисленными исследованиями в регионе Западного Кавказа установлено распространение гиперпаразитов рода *Ampelomyces* на многих видах мучнисторосяных грибов, чему способствуют эколого-климатические условия — относительно теплые непродолжительные зимы, в основном благоприятные условия летнего периода, а также широкий круг грибов-хозяев. За годы исследований зарегистрировано 56 видов мучнисторосяных грибов, развивающихся на 224 видах растений принадлежащих к 13 родам семейства Erysiphaceae. Грибы рода *Ampelomyces* обнаружены в мицелии патогена 137(61%) видов растений. Наиболее подвержены заселению гиперпаразитами роды *Erysiphe* (*E. trifolii*, *E. heraclei*, *E. polygoni*), *Golovinomyces* (*G. cichoracearum*, *G. galeopsidis*, *G. orontii*), *Sphaerotheca* (*S. fusca*, *S. macularis*, *S. pannosa*) и *Microsphaera* (*M. berberidis*).

Результаты флористических исследований и морфолого-культуральное изучение популяции грибов рода *Ampelomyces* послужили основанием проведения ревизии разработанной ранее систематики данных гиперпаразитов и ее расширения за счет введения четырех новых видов: *A. arthrocladiella* Puz., *A. podosphaera* Puz., *A. gramineae* Puz., паразитирующие на мучнистой росе яблони, дерезы и ячменя, а также вид *A. venturina* Puz., обнаруженный на конидиальной стадии *Fusicladium dendriticum* парши яблони. Установлено, что для роста и развития гиперпаразитов ампеломицес оптимальна средняя температура воздуха +20...26°C и относительная влажность воздуха выше 70%. Отсутствие строгой приуроченности видов ампеломицес к определенному виду гриба-хозяина способствует достаточно быстрому распространению их не только на колониях фитопатогена в пределах одного вида растения, но и на мучнисторосяных грибах других видов растений. Высокая плотность природной популяции ампеломицеса оказывает регулирующее влияние на снижение запаса инфекции путем полного разрушения ко-

лоний фитопатогена. В отношении экологических условий для ампеломисца наиболее предпочтительны ценозы с повышенной влажностью воздуха. По частоте встречаемости гиперпаразитов древесные культуры значительно уступают травянистым и кустарниковым. На открытых местах поражение ампеломисцем мучнисторосяных грибов наблюдается при наличии высокой влажности воздуха и равномерного выпадения осадков во время вегетации. Наблюдения показали, что численность и плотность популяции ампеломисца в естественном биоценозе значительно выше по сравнению с агроценозом. Так, в естественном ценозе ампеломисец развивался на 74% растений, пораженных мучнистой росой, в агроценозе, где не применялись пестициды (цветники, лекарственные, зеленые культуры) – на 61% растений, в агроценозе с применением пестицидов – на 58% растений. Широкое распространение гиперпаразитов рода *Ampelomyces* на мучнисторосяных грибах в условиях Западного Кавказа обеспечивает поддержание высокого уровня природных ресурсов этих грибов. Отмечаемая высокая эффективность природной популяции ампеломисца и возможность существенного ограничения одного из наиболее вредоносных заболеваний, поражающего основные культуры растениеводства, создает предпосылки применения этих гиперпаразитов в качестве агентов биологической защиты.

***HISTOPLASMA CAPSULATUM* В КОМПЛЕКСАХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ПОВЕРХНОСТИ ВЛАЖНОГО ПОТОЛКА И СТЕН ПОМЕЩЕНИЯ**

*Пячюлите Д.
Ботанический институт
Вильнюс, Литва*

Грибковые инфекции в настоящее время являются одной из важнейших проблем здравоохранения. Из потенциальных «болезней будущего» они превратились в актуальные «болезни настоящего» [2, 4]. В связи с интенсивной урбанизацией все большее внимание уделяется специфическим антропогенным сообществам, в помещениях различного назначения, в том числе жилых, и влияющих на качество жизни человека [4]. Особое место занимает изучение комплексов микроскопических грибов в связи с их разнообразным патогенным влиянием на организм человека. Одним из опасных грибов является *Histoplasma capsulatum*, который относится к микроорганизмам II группы патогенности и является причиной гистоплазмоз. Исходя из путей заражения,

наиболее часто встречаются первично легочные, кожные гистоплазмозы, реже – гистоплазмозы пищеварительного тракта и глаз [1–3, 5, 6]. *Histoplasma capsulatum* – двухфазный гриб. В природе он существует в мицелиарной форме, а в организме млекопитающих – в одноклеточной (дрожжевой). В природных условиях он обитает в почве, хорошо размножается также в помете голубей, летучих мышей и цыплят [1, 2, 5]. Споры могут сохранять активность до 10 лет. На искусственных питательных средах гриб растет в мицелиарной форме при 20–28°C, а при 37°C – в дрожжевой фазе, для которой необходимы более сложные питательные среды, содержащие кровь, экстракты органов, некоторые витамины и аминокислоты [1]. Болезнь возникает при ингаляции почвенной пыли или пыли, содержащей зараженный помет, поедании загрязненной пищи или через кожу, содержащей фрагменты мицелия или споры. Переносчиками заболевания также являются летучие мыши и птицы. Гистоплазмоз зарегистрирован почти в 90 странах всех континентов, кроме Антарктиды, тогда как из почвы (среда обитания гриба в естественных условиях) микромицет выделен более чем в 20 странах [3]. Нет литературных данных по выделению *Histoplasma capsulatum* с материалов, разных поверхностей или воздуха помещений. Для его развития гриба необходима довольно высокая температура (18–23°C) и влажность воздуха (более 70%). Сырость может инициировать развитие и этого гриба. Сырость в доме появляется по разным причинам, иногда совсем неожиданным. Причиной повышенной влажности в доме могут стать недостаточная вентиляция, протечки крыши, плохая герметизация панельных швов, нарушения строительных технологий. Мы с присутствием *Histoplasma capsulatum* в комплексах грибов развивающихся на поверхностях столкнулись впервые. После обнаружения *Histoplasma capsulatum*, провели более детальное исследование объекта – помещения с проблемой протечки крыши.

Цель настоящей работы – изучить комплекс микроскопических грибов, развивающихся на влажном из-за протечки крыши потолке и стенах помещения, в котором после первичного осмотра фиксировали появление патогенного гриба *Histoplasma capsulatum* Darling (анаморфная стадия гриба *Ajellomyces capsulatum*).

С февраля по июль 2004 г. исследовали комплексы микроскопических грибов в образцах влажного потолка и стен (рис. 1). Образцы отбирали по всей поверхности потолка. Интенсивность роста микроскопических грибов уменьшалась с расстоянием от центра протекания. Для более детального исследования комплексов образцы отбирали на расстоянии 0.5, 1, 1.3, 1.5 и 2 м от места протекания. Структуру комплексов микроскопических грибов исследовали при посеве на твердые питательные среды и при учете прямых методов.

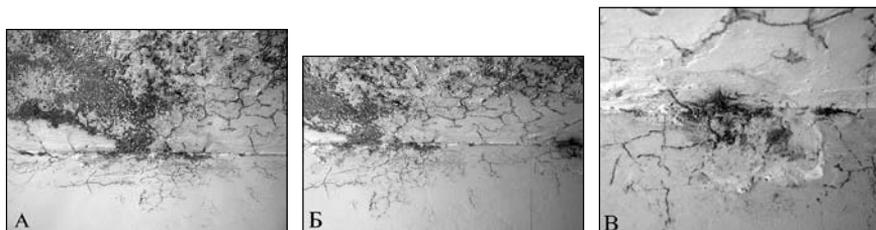
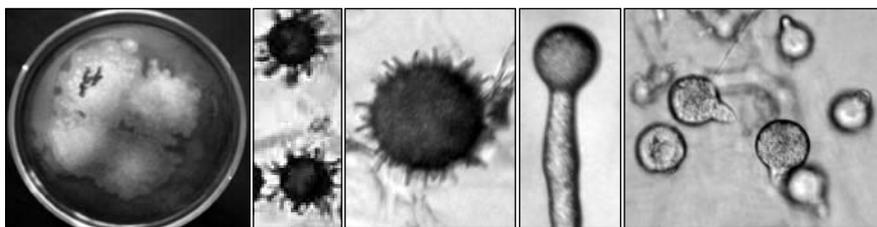


Рис. 1. Общий вид развития микроорганизмов на поверхности потолка и стен (Б – снимок с расстояния 1 м, А и В – с расстояния 0,5 м). Линия в центре каждой фотографии – угол между потолком и стеной.

Посев проводили на среды Чапека и сушловом агаре. Повторность образцов 5-кратная на каждом расстоянии от места протечки. Образцы отбирали на расстояниях 0,5, 0,8, 1, 1,3, 1,5 и 2 м. Проведение статистического анализа показало, что достоверное влияние ($P < 0,001$) на видовую структуру группировок микроскопических грибов оказывает их приуроченность к различным условиям влажности. Так как вода с места протечки пропитывалась до расстояния 0,8–1 м, а протек повторялся с каждым более интенсивным дождем, сегмент потолка до 0,5 м выдерживал влагу через весь период исследования. Поверхность сегментов 1–1,3 м высыхал и снова становился влажным, а сегмент 1,3–2 м был сухим весь период исследования.

Структура комплексов микроскопических грибов, развивающихся на поверхностном слое потолка и стен, была разнообразной, в зависимости и от расстояния от центра протекания и от влажности субстрата. Во всех образцах, отобранных на поверхности потолка и стен до расстояния 0,5–0,8 м, обнаружили *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* Darling. Микромицет обнаружили только в 6% образцов, отобранных на расстоянии 0,8–1 м, и 0,4% отобранных на расстоянии 1–1,3 м. На расстоянии более 1,3 м *H. capsulatum* не был обнаружен ни в одном образце. Более удачно выделить *H. capsulatum* удалось методом прямого отсева от отобранных образцов с пораженной поверхности потолка и стен. Представленность различных видов определяли, рассчитывая отношения количества фрагментов определенного образца, где организм обнаружен, к общему числу анализируемых фрагментов образца. В данном случае показатель обилия (доля каждого вида к общему числу выделенных грибов) соответствовал показателю их частоты встречаемости. Самая высокая частота встречаемости *H. capsulatum* (до 11,3%) обнаружена в образцах, на которых доминировал белый или светло-серый мицелий. В других образцах частота встречаемости гриба попадала интервал значений от 0,2% до 1,76%. Распределение *H. capsulatum* в комплексах грибов, развивающихся на потолке и стене, зависело от влажности поверхности – частота встречаемости снижалась с расстоянием от места протечки. Почти во всех вариантах выделения гриба

в чистые культуры, совместно с его колониями хорошо росли микроскопические грибы из родов *Verticillium* Nees ex Link или *Paecilomyces* Bainier, а в некоторых вариантах и из рода *Mortierella* Coem. Благоприятными условиями для развития плесени считаются влажность материала более 5% и влажность воздуха свыше 60%. *H. capsulatum* был обнаружен и в комплексе микроскопических грибов в пробах воздуха. Условия влаги в исследуемом помещении были благоприятными для развития данного гриба. Какие соединения способствовали росту гриба, не было изучено. Поскольку микроскопический гриб *H. capsulatum* не был обнаружен среди первичных в сукцессии грибов, поражающих исследуемый субстрат (водную эмульсию краски), можно предполагать, что он усваивает промежуточные продукты деструкции субстрата, вторичные метаболиты или биомассу других микроорганизмов. Микромицет хорошо развивался и образовал макро- и микроконидии на многих твердых средах при температуре 18–25°C без специальных добавок (рис. 2).



а б в г д

Рис. 2. *Histoplasma capsulatum*: а — колонии на крышке чашки, в которой развивались колонии гриба (как зеркальное отражение), б и в — макроконидии, г — образование микроконидий и д — прорастание микроконидий.

Надо обратить внимание на то, что культура гриба интенсивно развивалась и на поверхности крышки чашки, в которой выращивали микромицет. Конидии попадали на крышку чашки с первичной колонии, развивающейся на сусловом агаре. Вопрос о том, какие системы за развитие микроскопического гриба без субстрата и только в присутствии влаги в чашке.

Сейчас известно два подвида гриба *Histoplasma capsulatum*: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* и *H. capsulatum* var. *duboisii*. С появлением гриба *Histoplasma capsulata* var. *capsulatum* в таких исследованиях мы столкнулись впервые. *H. capsulatum* был обнаружен и в комплексе микроскопических грибов в пробах воздуха исследуемого помещения. После УФ облучения конидии гриба погибают даже при низких дозах облучения.

УСЛОВНО ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В ВОЗДУХЕ БОЛЬНИЧНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Суханова Ю.А.

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им.
П.Н. Кашкина ГОУ ДПО СПбМАПО Росздрава
Санкт-Петербург

С целью определения частоты встречаемости условно патогенных грибов нами был исследован воздух в помещениях онкогематологического отделения многопрофильной больницы, преимущественно в весенне-осенний период 2005 г. Посев воздуха осуществляли с помощью импакторного пробоотборника ПУ-1Б (АОЗТ «Химко», Москва) на пластинки агара Сабуро и сусло-агара в одноразовые пластмассовые стерильные чашки Петри, в режиме 250 л/мин. Чашки инкубировали в термостатах при температуре 28° С и 37° С. Результаты учитывали через 3 и 21 день выращивания.

Общее количество проб воздуха составило 86, положительных на *Aspergillus spp.* – 38,4% , из них на *A. fumigatus* – 72,7%, *A. niger* – 15,2%, *A. clavatus* – 3%, *A. oryzae* – 3%, *A. fumigatus* + *A. niger* = 6,1%. Максимальная концентрация *A. fumigatus* составила 56 КОЕ/куб.м. и была обнаружена в пробе, отобранной в мае, в дождливую погоду, в палате отделения. Средняя концентрация *A. fumigatus* составила 3,7 КОЕ/куб. м. Также обнаружены другие условно патогенные грибы в средних концентрациях: *Trichoderma spp.* 0,91 КОЕ/куб.м., *Paecilomyces spp.* 0,49 КОЕ/куб.м., *Scopulariopsis spp.* 0,12 КОЕ/куб.м., *Chaetomium spp.* 0,12 КОЕ/куб.м., *Rhizopus spp.* 0,23 КОЕ/куб.м., *Alternaria spp.* 0,23 КОЕ/куб.м., *Acremonium spp.* 0,05% КОЕ/куб.м., *Geotrichum spp.* 3,02 КОЕ/куб.м. Пробы воздуха отбирали в одних и тех же помещениях в определенных точках: в процедурных кабинетах, в палатах и в душевых комнатах палат, в коридорах и в подсобных помещениях отделения.

Также обследованы операционные блоки трех лечебных учреждений. Типы обследованных операционных: кардиохирургическая, сосудистая, абдоминальная, эндоскопическая, экстренная, ортопедическая, урологическая, отоларингологическая. Грибы рода *Aspergillus* встречались в аэрозоле оперблоков наиболее часто, в концентрации от 4 до 36 КОЕ/куб.м. По частоте встречаемости на первом месте был *A. fumigatus*, на втором – *A. niger*, остальные виды обнаруживали эпизодически (*A. flavus*, *A. nidulans*, *A. glaucus*, *A. versicolor*). Обнаружены и другие условно патогенные грибы: *Trichoderma spp.*, *Paecilomyces spp.*, *Scopulariopsis spp.*, *Chaetomium spp.*, *Rhizopus spp.*, *RhizoMucor spp.*, *Alternaria spp.*, *Acremonium spp.*, *Geotrichum spp.*

Надежными средствами борьбы с этой проблемой служат:

1. Система вентиляции, обеспечивающая эффективную фильтрацию воздуха, поддержание избыточного давления в стерильной зоне опера-

ционной, управление движением потока воздуха в рабочей стерильной зоне.

2. Соблюдение требований санитарно-эпидемиологического режима согласно СанПин 2.1.3.1375-03.

3. Применение дезинфектантов, активных в отношении условно патогенных грибов.

4. Обучение персонала медицинских учреждений по вопросам профилактики нозокомиальных микозов.

АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫЙ ГРИБ И БОБОВОЕ РАСТЕНИЕ – НАДОРГАНИЗМЕННАЯ СИСТЕМА

Юрков А.П.

*ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии
Санкт-Петербург*

Экологический потенциал бобовых растений, их продуктивность определяются эффективностью их взаимодействия с симбиотическими микроорганизмами. Это взаимодействие осуществляется путем перекрестной регуляции генов и приводит к формированию надорганной системы «растение – микроорганизм». Для ведения устойчивого сельского хозяйства необходимо поддерживать симбиотические растительно-микробные взаимосвязи в агробиоценозах, направленные на реализацию естественного адаптивного потенциала растений.

Арбускулярная микориза является наиболее широко распространенной формой растительно-микробных взаимодействий. В ее образовании участвуют грибы типа *Glomeromycota* и большинство наземных растений. В основе отношений между макро- и микросимбиотом лежит обмен продуктами метаболизма, в результате которого гриб получает углеводы, а растение получает фосфор и другие элементы. Настоящее исследование направлено на решение одной из фундаментальных проблем экомикологии, связанной с изучением механизмов, регулирующих эффективность симбиотических отношений.

В настоящем исследовании изучен полиморфизм люцерны хмелевидной по отзывчивости на инокуляцию эндомикоризным грибом *Glomus intraradices*. Обнаружены различия между формами люцерны хмелевидной разного происхождения по эффективности симбиоза. Отобрана облигатно-микотрофная форма люцерны – сорт ВИК32, растения которого имеют признаки карликовости при отсутствии гриба. Из популяции Павловская отобрана линия, неспособная к формированию арбускулярной микоризы.

Данные по изменчивости люцерны представляют интерес при отборе линий с высокой симбиотической эффективностью. Полученные

контрастные формы могут быть использованы при создании высокопродуктивных симбиотических систем «растения-микроорганизмы». Использование сортов с высокой симбиотической активностью позволит снизить нормы минеральных удобрений и сделать производство сельскохозяйственной продукции экологически безопасным.

ОПТИМИЗАЦИЯ ЗАЩИТЫ ЯБЛОНИ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ

Якуба Г.В.

*ГНУ Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства Россельхозакадемии
Краснодар*

Альтернариоз яблони является новым для породы заболеванием в садах юга России. С 1999 г. болезнь выявлена в четырех агроэкологических зонах региона на основных районированных, а также на коллекционных сортах. Опасность и вредоносность альтернариоза в регионе заключается в высокой пластичности и адаптационной способности гриба-возбудителя, что проявляется в освоении им различных типов субстратов (цветки, листья, плоды), образовании комплексов с паршой яблони. Установлено, что патоген инфицирует яблоню в период цветения через цветки, а также через поранения листьев или плодов — повреждения насекомыми, болезнями. Заражение через цветки приводит в дальнейшем к развитию гриба в семенной камере плода. Зимует возбудитель болезни мицелием под кроющими чешуями почек и хламидоспорами на опавших листьях яблони.

На основе анализа литературных источников, а также биологических особенностей возбудителя альтернариоза в условиях региона, испытаний фунгицидов в лабораторном и мелкоделяночном опытах разработаны элементы тактики защиты от заболевания. Они включают определение оптимальных сроков защиты от болезни, выявление наиболее эффективных на каждом этапе защиты фунгицидов.

Первое опрыскивание фунгицидами проводится при защите от альтернариоза в фазу яблони «зеленый конус», когда распускаются почки, в которых гриб зимует в виде мицелия. В этот период наиболее эффективен фунгицид хорус с нормой расхода 0,2 кг/га, возможно также применение купроксата — 5 л/га, абига-пик — 8,5–9,6 л/га.

Органами, наиболее чувствительными у яблони к заражению возбудителем альтернариоза, являются цветки. Опасность заражения определяется еще и тем, что для их инфицирования не требуется поврежденной кутикулы (Ellis, Barrat, 1983). Заражение яблони через цветки

происходит только при относительной влажности воздуха выше 75 % и наличии капельно-жидкой влаги. Для предотвращения инфицирования яблони таким путем по началу цветения проводят вторую обработку, которая является обязательной, если в этот период идут дожди или высокая относительная влажность воздуха. Применяются препараты группы стробилуринов (строби или зато 0,14 кг/га) или скор – (0,3 л/га).

В годы с ранним проявлением и эпифитотийным развитием парши, а также после погодных стрессов в ранне-весенний период (весенние заморозки) альтернариоз может проявляться достаточно рано – в 3 декаде мая – 1-й декаде июня, поражая ослабленные деревья, образуя грибной комплекс с паршой или развиваясь самостоятельно. При появлении первых пятен альтернариоза на листьях необходимо провести обработку строби или зато – 0,14 кг/га, скором – 0,3 л/га, при необходимости повторить ее через 7–10 дней. Обязательным является опрыскивание в конце июня – первой декаде июля, до начала максимального проявления болезни (первая-вторая декады июля). Наиболее эффективным фунгицидом на этом этапе является полирам, норма расхода – 1,5–2 кг/га.

На средне- и высоковоплодных сортах (Айдоред, Боровинка, Джонатан, Зимнее МОС ВИР, Корей, Кубань и др.), в садах с ослабленными деревьями, сильным развитием парши в третьей декаде августа – второй декаде сентября отмечается поражение альтернариозом молодых листьев на однолетних приростах. В таких кварталах целесообразна обработка одним из фунгицидов: полирам – 1,5–2 кг/га, делан – 0,6 кг/га.

Из агротехнических мероприятий необходима обрезка в зимний или ранне-весенний период, а также заделка в почву опавших листьев для снижения зимующего запаса инфекции гриба-возбудителя.

Глава 3

ПРОБЛЕМЫ АЛЛЕРГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ГРИБАМИ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМНЫХ АНТИМИКОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОГЕННОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Ахунова А.М., Ахунов В.М.
Поликлиника №204 ЮАО
Москва

Пециломикоз-новый вид врожденной хронической инфекции крови тканевыми формами диморфных грибов рода *Paecilomyces* с условно патогенными свойствами, которая контролируется системами клеточного и гуморального иммунитета с помощью фагоцитоза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности с участием аллергенспецифических Ig G- и IgE антител. Главными эффекторными клетками иммунной защиты организма являются естественные киллеры и эозинофилы. Снижение гуморального контроля за численностью грибных клеток под влиянием вирусной инфекции, стрессовых воздействий, сезонных и физиологических колебаний иммунитета приводит к массовому накоплению клеток гриба в крови и развитию уже нового вида заболевания с клинической манифестацией инфекционного синдрома, вслед за которым через 7–14 дней развиваются кожные проявления аллергии и/или приступы удушья. Выявление этиологической роли грибов рода *Paecilomyces* в развитии эндогенной бронхиальной астмы (ЭБА) (Ахунова.А.М.,1993; 2000; 2005 г.) выдвигает актуальные задачи по разработке этиотропного лечения и профилактики данного заболевания.

С этой целью на базе городской поликлиники № 204 ЮАО с 2003 г. в программу обследования больных с бронхолегочной патологией введено обследование на пециломикоз, включающее: экспресс-диагностику пециломикоза (Ахунова. А.М., Ахунов. В.М., 2005), исследование аллерго-иммунологического статуса больных, посев образцов крови на питательные среды для выделения культур грибов и их идентификации. Среди обследованных с сентября 2003 г. по декабрь 2005 г. было 262 больных с ЭБА. Из них 66 мужчин и 196 женщин. По возрастному составу больные распределялись следующим образом: от 16 до 19 лет – 15, от 20 до 29 лет – 17, от 30 до 39 лет – 34, от 40 до 49 лет – 47, от 50 до 59 лет – 62, от 60 до 69 лет – 69, свыше 70 лет – 23. Давность заболевания колебалась от 1-го месяца до 27 лет.

Как показали результаты исследований у всех больных в образцах крови были обнаружены сферулы-тканевые формы грибов рода *Paecilomyces*, количественное содержание зрелых форм которых колебалось от 8000 до 45 000 в 1 мкл крови, при норме 1000–6000. Среди выделенных культур грибов рода *Paecilomyces* наиболее часто выделялась культура гриба *Paecilomyces variotii* Baenier (1907).

Лечение системными антимикотиками было осуществлено у 65 больных: 16 (25%) больных в составе комплексного лечения, включающего ингаляционные-ГКС в фиксированной дозе 500–1000 мкг/сут. флутиказона или бекламетазона дипропионата + b2 агонисты короткого действия и 49 (75%) больным, получавшим только b2-агонисты короткого действия и/или метилксантины. По данным наших исследований применение этиотропного лечения системными антимикотиками в группе больных с ЭБА, не получавших ингаляционные – ГКС (75% наблюдений) позволило достичь полной ремиссии заболевания без употребления бронхолитиков в течение 6 мес-2-х лет (срок наблюдения) после 1–2 курсов лечения. В группе из 16 (25%) больных, получавших ингаляционные-ГКС, был достигнут только хороший контроль за симптомами ЭБА при употреблении ими минимальных доз ингаляционных-ГКС (100–125 мкг/сут.) в утренние часы + b2-агонисты короткого действия по потребности.

Данные лабораторно клинических исследований позволяют констатировать высокую степень эффективности применения этиотропного лечения ЭБА системными антимикотиками по сравнению с методами традиционной терапии при наименьших экономических затратах.

В целях профилактики и снижения заболеваемости ЭБА необходимо внедрить в практику первичного звена лечебно-профилактических учреждений постановку способа экспресс-диагностики пециломикоза наряду с клиническим анализом крови, что позволит своевременно выявлять активацию пециломикозной инфекции в крови и проводить этиотропное лечение системными антимикотиками для предупреждения развития или рецидива эндогенной бронхиальной астмы.

ИММУННЫЕ И ОБМЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МИКОТИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМОЙ И ИХ ДИНАМИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

Барабанов А.Л.

*Белорусский государственный медицинский университет
Минск, Беларусь*

Были обследованы 153 больных экземой, среди которых у 78 человек (51%) заболевание развилось на фоне микоза или онихомикоза стоп и кистей, в связи с чем им был выставлен диагноз «микотическая экзема». Целью работы явилось выяснение основных патогенетических механизмов развития микотической экземы с последующим усовершенствованием лечения за счет их коррекции, сравнение факторов патогенеза микотической экземы с таковыми при других формах заболевания.

Обследуемые лица были разделены на две группы, не отличавшиеся друг от друга по половозрастному составу и особенностям клинического течения микотической экземы. 46 пациентов группы контроля получали стандартную терапию, а 32 вошедшие в опытную — дополнительно получали инфузии полифункционального кровезаменителя микродез, обладающего дезинтоксикационным и гемореологическим действием. У всех пациентов с микотической экземой до получения курса лечения и по его окончании проводилось определение степени выраженности эндогенной интоксикации по уровню молекул средней массы плазмы, состояние баланса между протеиназами и ингибиторами протеиназ и между про- и антиоксидантами, активность лизосомальных ферментов сыворотки крови, некоторые характеристики белкового обмена и состояния иммунной системы. Клиническая эффективность лечения оценивалась по скорости разрешения симптоматики, соотношению непосредственных исходов лечения и количеству рецидивов за период полугодового наблюдения. После обработки методами вариационной статистики показатели в разных группах сравнивались друг с другом и с результатами обследования здоровых доноров.

При поступлении в обеих группах выявлено состояние эндогенной интоксикации, развившееся на фоне дисбаланса протеиназ и их ингибиторов, диспротеинемии (отмечалось возрастание концентрации общего белка с параллельным снижением уровня альбумина), активации лизосомальных ферментов, повышения относительной прооксидантной активности. Отмечены высокие уровни креатинина и общего билирубина. Регистрировались лейкоцитоз с лимфоцитозом, повышение концентрации Т-лимфоцитов за счет как хелперов, так и супрессоров с нормальным их соотношением, возрастание абсолютного уровня В-клеток с гипер-А, М и Е- иммуноглобулинемией. Данные изменения при микотической экземе не отличались от таковых в общей группе обследованных пациентов с экземой.

Оценка клинической эффективности выявила скорейшее разрешение субъективных и объективных симптомов заболевания в группе больных, получавших инфузии препарата микродез, у этих же пациентов заметно лучше были непосредственные результаты лечения и намного меньше — процент рецидивов за полугодовой период. Установлено, что применение стандартной схемы лечения практически не оказывало влияния на выявленные изменения, и даже способствовало усугублению имеющегося дисбаланса протеиназ и их ингибиторов и иммунных нарушений — за счет изменения соотношения регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. В группе больных, дополнительно получавших микродез, происходило значительное снижение уровня молекул средней массы в плазме крови, отмечено возрастание уровня альбумина и снижение активности сывороточных лизосомальных ферментов, восстанавливался баланс между протеиназами и ингибиторами протеиназ и между про- и антиоксидантами. Применение препарата не оказывало негативного влияния на состояние иммунной системы и

способствовало сохранению нормального соотношения регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Таким образом, применение полифункционального кровезаменителя микродез в составе комплексной терапии больных микотической экземой способствовало повышению эффективности лечения за счет коррекции основных обменных нарушений.

МИКОГЕННЫЕ АЛЛЕРГЕНЫ

Желтикова Т.М.

*НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова РАМН
Москва*

В настоящее время установлено, что сенсибилизация к микромицетам у жителей разных стран варьирует от 1,1 до 64% (Loureiro et al., 2000; Migacheva et al., 2000; Salo et al., 2005 и др.). Клинически микогенная аллергия проявляется чаще как риносинусит, бронхиальная астма и экзогенный аллергический альвеолит (=синдром гиперчувствительности легких «hypersensitivity pneumonitis»). Микогенная аллергия формируется как иммунная реакция на экспозицию спор грибов в непосредственном окружении больного с генетической предрасположенностью к атопии. Споры и частицы мицелия грибов только временно присутствуют в дыхательных путях человека, не колонизируя их, и вызывают аллергические реакции как немедленного, IgE-опосредованного, так и замедленного, клеточного типов (Kauffman, Tomee et al., 1995).

Среди всех известных грибов аллергенными свойствами обладают свыше 300 видов (Лещенко, 1973; Адо, 1984; Kauffman, Tomee et al., 1995). Антигенный состав экстрактов грибов гетерогенен. Подавляющее большинство известных аллергенов по биохимической структуре представляют собой протеины, обладающие ферментативной активностью, и полисахариды (маннаны), молекулярные веса которых варьируют от 11 до 105 KDa. У многих видов грибов выявлены антигенные детерминанты, обладающие перекрестной реактивностью. В этой связи моносенсибилизация к какому-либо виду грибов — редкое явление. Как правило, микогенная аллергия отличается полисенсибилизацией. Доказано, что сенсибилизация к микогенным аллергенам является фактором риска развития тяжелой формы бронхиальной астмы (Black et al., 2000).

Диагностика микогенной аллергии осуществляется методами *in vivo*: скарификационные кожные пробы, прик-тесты, провокационные назальные тесты и др. и *in vitro*: иммуноферментный анализ (ELISA), хе-молуминесцентный тест и т.д. Диагностика и лечение микогенной аллергии осложняется ограниченным набором коммерческих аллергенов.

Кроме того, используемые в практике здравоохранения аллергены одного вида, но разных производителей, часто существенно отличаются друг от друга по специфической активности и количественному соотношению различных антигенных фракций. В первую очередь это связано с трудностью стандартизации сырья, которым служат культуры микромицетов. Антигенная композиция микогенных экстрактов существенно варьирует в зависимости от условий культивирования (температуры, питательной среды и т.д.); от того, что используют при производстве препаратов – споры или мицелий, и в каком количественном соотношении. В настоящее время активно ведутся работы по созданию рекомбинантных микогенных аллергенов (Сramer et al., 2006).

Для эффективной комплексной дифференциальной диагностики микогенной аллергии необходимо выявление таксономического разнообразия и концентрации микромицетов в непосредственном окружении больного. В настоящее время для оценки экспозиции микогенных аллергенов применяют, как правило, три группы методов: микологический анализ, иммунохимические анализы с использованием поли- и моноклональных антител к основным аллергенам микромицетов и оценка концентрации продуктов жизнедеятельности плесневых грибов – эргостерола, 1–3 b глюканов в домашней пыли. Все эти методы имеют свои достоинства и недостатки. В настоящее время все большее значение приобретает иммуноферментный анализ (ELISA) с использованием моноклональных антител против основных микогенных аллергенов. Таким образом, основные вопросы диагностики и лечения микогенной аллергии неразрывно связаны с получением высокоочищенных, стандартизованных по физико-химическим и иммуно-биологическим свойствам микогенных аллергенов.

КОРРЕКЦИЯ ДИСБАКТЕРИОЗОВ КИШЕЧНИКА И РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В КОМПЛЕКСНОЙ ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

*Караулов А.В., Бицоева З.В.
ММА имени И.М. Сеченова*

Реконвалесценты после острой пневмонии характеризуются качественными и количественными изменениями нормальной микрофлоры полости рта и кишечника, возникающими вследствие воздействия антибактериальной терапии. Нарушение микрофлоры, изменения иммунного статуса зачастую имеют единые механизмы и требуют своевременной коррекции как части процесса иммунореабилитации. Для эффективного лечения дисбактериозов необходимо воздействие как на

микрофлору, так и на систему местного иммунитета. Поэтому в комплексную реабилитацию больных с целью коррекции дисбактериоза полости рта был включен имудон, представляющий собой лизат штаммов наиболее часто встречающихся бактерий и грибов полости рта. В комплексной коррекции дисбактериоза кишечника наряду с эубиотиками был использован другой иммуномодулятор — бронхомунал. После проведенной восстановительной терапии отмечается нормализация как показателей местного и системного иммунитета, так и состояния микробиоценоза кишечника и ротовой полости. Эффективность проведенной иммунореабилитация оценивалась в течение одного года. Полученные результаты указывают на возможность использования бактериальных лизатов как для коррекции нарушений иммунитета, так и ускорения восстановления нормальной микрофлоры организма. Существенным результатом проведенной иммунореабилитации является также снижение частоты и длительности респираторных инфекций у больных после использования бактериальных лизатов. Адекватное применение препаратов этой группы приводит также к снижению последующей антибактериальной нагрузки, следовательно, и профилактики дисбактериозов. Таким образом, восстановление ключевых параметров местного и системного иммунитета является необходимым условием выздоровления больных после перенесенной острой пневмонии.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У РАБОЧИХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗАМИ

Кошкин С.В., Зайцева Г.А.¹

ГОУ ВПО Кировская ГМА Росздрава

1 — ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания крови

Росздрава»

Киров

Под наблюдением находились 96 больных с аллергодерматозами, профессиональная деятельность которых связана с получением гидролизных кормовых дрожжей с использованием продуцентов — дрожжеподобных грибов рода *Candida*. В качестве иммуногенетических характеристик у них были исследованы эритроцитарные антигены системы АВО и резус-принадлежность, типы гаптоглобина и антигены системы HLA (локусы А, В, С). При определении группы крови и резус-фактора у 88 больных не было выявлено различий в распределении этих признаков у наблюдавшихся в сравнении со здоровыми (624 донора крови).

Исследование типа гаптоглобина у 85 пациентов дало следующие результаты: фенотип 1-1 обнаружен у 17 (20%), фенотип 2-1 – у 33 (38,8%), фенотип 2-2 – у 35 (41,2%). В контрольной группе характер распределения типов гаптоглобина выражался иначе: 1-1 – 73%, 2-1 – 40,5%, 2-2 – 52,2%. Сопоставление обеих групп выявило статистически значимое преобладание фенотипа гаптоглобина 1-1 среди больных ($\chi^2=13,8$; $p<0,001$). Коэффициент относительного риска развития заболевания для носителей гаптоглобина 1-1 составил 3,2.

Антигены системы HLA идентифицировали у всех больных. Выявили увеличение частоты антигена HLA-B16, по сравнению с его встречаемостью в популяции здорового населения региона ($\chi^2=7,2$; $p<0,01$). Другая особенность в распределении HLA-антигенов у больных заключалась в более редком обнаружении у них антигена B14 ($\chi^2=3,3$; $p<0,05$). Кроме того, отмечена тенденция к увеличению числа носителей антигена A9 и снижению частоты антигенов: A1, A2, A3, A11, A19. Учитывая, что ценную информацию о предрасположенности людей к различным заболеваниям могут дать не только отдельные антигены, но и их сочетания, проанализировали характер их распределения у больных. Установлено, что у них более часто, чем в контроле регистрировались фенотипические сочетания: B8-B13 ($\chi^2=4,8$; $p<0,05$), B12-B16 ($\chi^2=4,6$; $p<0,05$), B17-B35 ($\chi^2=4,8$; $p<0,05$) и гаплотипические сочетания: A1-B13, A2-B16, A3-B18, A9-B16, A9-B35, A19-B16, A28-B5, A28-B18.

Всем больным были проведены кожные пробы с кормовыми дрожжами и тест ППН (показатель повреждения нейтрофилов). У 22 больных зарегистрированы положительные результаты обоих тестов. При оценке результатов типирования у этих сенсibilизированных пациентов отмечено снижение частоты встречаемости антигена A3 ($\chi^2=4,85$; $p<0,05$), увеличение – антигена A28 ($\chi^2=5,4$; $p<0,05$); фенотипических комбинаций: A9-A0 ($\chi^2=4,6$; $p<0,05$), B15-B16 ($\chi^2=11,48$; $p<0,01$), B17-B35 ($\chi^2=5,85$; $p<0,05$) и гаплотипических сочетаний: A1-B13, A1-B16, A1-B22, A2-B16, A3-B12, A9-B16, A9-B35, A19-B17, A28-B5, A28-B12, A28-B8, A28-B27. При сопоставлении общей группы больных аллергодерматозами и сенсibilизированных больных достоверных различий в характере распределения HLA-антигенов не выявлено.

Обнаруженные нами ассоциации гаптоглобина типа 1-1 и отдельных HLA-антигенов и их комбинаций с развитием аллергических кожных заболеваний у рабочих биохимического завода позволяют рекомендовать использовать эти признаки с учетом аллергологического анамнеза при профессиональном отборе для предприятий микробиологической промышленности.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ, ВЫЗВАННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ К НЕПАТОГЕННЫМ ПЛЕСНЕВЫМ ГРИБАМ В УСЛОВИЯХ СИБИРИ

*Лазаренко Л.Л., Лазуткина Е.Л., Лузгина Н.Г., Музыкаченко Л.М.,
Цырендоржиев Д.Д., Шкурупий В.А.*
*ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО
РАМН
Новосибирск*

Бронхиальная астма, вызванная сенсбилизацией к непатогенным плесневым грибам, занимают второе место (36,7%) в структуре этиологически значимых аллергенов среди 740 больных бронхиальной астмой, находившихся на лечении в клинике ГУ НЦ КЭМ СО РАМН. Наиболее часто сенсбилизация выявлялась к *Penicillium notatum* (37,4%), *Candida albicans* (34,3%), *Aspergillus flavus* (23,7%), *Alternaria tenuis* (4,6%). Уровень общего IgE в группе больных с грибковой бронхиальной астмой составил 769,3 МЕ/мл, что достоверно выше уровня IgE (461,5 МЕ/мл) больных атопической бронхиальной астмой, вызванной сенсбилизацией к бытовым и эпидермальным аллергенам. Начало заболевания грибковой бронхиальной астмой приходится на средний возраст (38,7 лет), по сравнению с атопической – 12,4 года, и носит более тяжелый характер (среднетяжелое и тяжелое течение в 86,6% случаев, потребность в глюкокортикоидной терапии в 47,3% случаев). Другая особенность грибковой бронхиальной астмы частое сочетание с микозами стоп (73,2%), непереносимость пенициллина и его производных (32,8%). Цитокиновый статус больных бронхиальной астмой, вызванной грибковой сенсбилизацией, характеризуется выраженным дисбалансом: уровень Th1 цитокинов, интерферон-гамма и IL-2 достоверно ниже, а Th2 цитокинов (IL-4) выше по сравнению с атопической бронхиальной астмой.

ОСОБЕННОСТИ МИКОБИОТЫ ОРГАНИЗМА У БОЛЬНЫХ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Мавлянова Ш.З.
*НИИ Дерматологии и венерологии МЗ РУз
Ташкент, Узбекистан*

В настоящее время придают большое значение к нарушениям микробной ассоциации в организме больных с кожными заболеваниями.

Основную роль в микробиоценозе в кожной патологии отводят патогенной флоре. Однако, в последнее время важное значение приобретает условно-патогенная флора, которая при минимальных «благоприятных» условиях (иммунодефицитах, нарушении обмена веществ и т.д.) превращаются в патогенную форму, приобретают адгезивную способность, пролиферируют, выделяют токсины и постепенно проникают в участки тонкой кишки и развивается бактериальная контаминация, которая способствует упорное, хроническое течение кожных заболеваний.

Целью настоящего исследования явилось изучение микобиоты организма у больных с атоническим дерматитом. Согласно Международной статистической классификации болезней и проблем связанных со здоровьем по МКБ-10 (2000) атонический дерматит объединяет группу болезней нейродермит, экземы, почесухи, атонического нейродермита. Нами было обследовано 70 больных в возрасте от 5 до 53 лет. Среди них с диагнозом нейродермит составили 34 больных, атонический дерматит – 22, почесуха – 14. Для изучения микобиоты организма обследовано биосубстраты (кожные чешуйки, слизистая полости рта, вагины, кишечника) с помощью микологических исследований (микроскопически и культурально). Результаты микологических исследований показали, что дрожжеподобные грибы рода *Candida* spp, были выявлены на слизистой полости рта у 19 больных, в кишечнике – у 34, гениталий – у 2, гладкой кожи – у 1. Микобиота слизистой полости рта у обследуемых больных имел своеобразный характер. Так, почкующиеся формы *Candida* spp. были выявлены у 8 больных с атоническим дерматитом, почесухой – у 4, нейродермитом – 6, что свидетельствовало о развитии кандидозной инфекции. Для оценки роли микобиоты кишечника в формировании кандидозного процесса определяли обсемененность грибов рода *Candida* в 1 мл кала. В группе больных с нейродермитом (34) у 2 (5,8%) были выявлена 106 и выше КОЕ/г *Candida* spp., у 7 (20,6%) – 104 КОЕ/г, у 1 (2,9%) – 103 КОЕ/г. У больных с атоническим дерматитом обсемененность кишечника имела следующий характер: у 4 (18,2%) – 106 КОЕ/г, у 8 (36,4%) – 104 КОЕ/г, у 4 (18,2%) – 103 КОЕ/г. Тогда как в группе контрольных здоровых лиц (20) только у 2 были выявлены единичные колонии *Candida* spp.

По-видимому, такая высокая обсемененность кишечника грибами *Candida* spp. у больных с атоническим дерматитом обусловлена множественными факторами: хроническое течение кожного заболевания, ятрогения, наличие фоновых заболеваний, особенно желудочно-кишечного тракта (хронический холецистит, панкреатит, гепатит, колит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки), при котором облигатная флора при существующем иммунодефиците приобретает патогенный характер. Видовая идентификация грибов рода *Candida* показало, что у больных с атоническим дерматитом наиболее часто высевался *C. tropicalis* (30,7%), *C. parapsilosis* (30,7%), далее *C. albicans* (11,5%), *C. krusei* (11,5%), *C. glabrata* (7,7%), *C. kefyr* (3,8%). Микробиологические

исследования показали, что штаммы *Candida spp.* выделенные от больных активно формировали ростковые трубки, обильно продуцировали хламидоспоры, свидетельствующие о более высокой протеолитической и фосфолипазной активностью и развития инвазивного кандидоза.

Среди субъективных ощущений у больных отмечали дискомфортность желудочно-кишечного тракта, склонность к запорам переходящим временами в диарею, полифекалия, общая слабость, головные боли, резистентность организма к проводимой терапии. У больных с высокой колонизацией *Candida spp.* В кишечнике среди кожных высыпаний наиболее чаще превалировали эритематозно-сквамозные высыпания, сопровождающиеся интенсивным зудом.

Таким образом, результаты исследования показали, что у больных с атоническим дерматитом развивается синдром кожного заболевания «дисбиоз, связанный с грибами рода *Candida*», который способствует отягощению течения заболевания, развивает инвазивный кандидоз. При этом препаратами выбора для лечения инвазивного кандидоза является системные антимикотики азольной группы – флуконазол (дифлюкан) в дозе 50–10 мг в день в течение 14 дней.

ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ МИКОГЕННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА

Мавлянова Ш.З., Разикова Э.С., Мавлянова Н.Н., Исмагилов А.И.
НИИ Дерматологии и венерологии МЗ РУз, Ташкент
Ташкентская Медицинская Академия
Узбекистан

В последнее время наряду с наиболее распространенными и важными в аллергене отношении пищевых, пыльцевых аллергенов значительно возрастает роль микромицетов и продуктов их метаболизма в качестве алергизирующих агентов в развитие кожных и аллергических заболеваний. При этом в последнее время важное значение придается условно-патогенным грибам рода *Candida*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

Целью наших исследований явилось изучение повышенной чувствительности организма к условно-патогенным грибам и продуктам их метаболизма детей подросткового возраста. Было обследовано 54 детей в возрасте от 15 до 18 лет учащиеся школ, колледжей, лицеев. Проведены анкетирования учащихся, а также клинические, аллергологические и микологические исследования.

С целью специфической диагностики были поставлены кожные скарификационные пробы со следующими аллергенами: *C. albicans*,

Aspergillus fum., *Alternaria spp.*, *Penicillium*, *Mucor spp*, *Cladosporium*. Для микологических исследований были обследованы биосубстраты организма (слизистая полости рта, кожные чешуйки, кишечник).

Результаты кожно-аллергологических проб показали значительную выявляемость (40,7%) положительной кожной пробы на грибковые аллергены у подростков. Среди всех грибковых аллергенов наибольшая положительная кожная проба отмечалась к грибам рода *Candida* (45,5%), что обуславливает ведущее место среди всех микромицетов в качестве алергизирующих агентов. Среди плесневых грибов высокая алергизация отмечалась к грибам *Penicillium* – 27,3%, *Mucor* – 22,7%.

Микологические исследования биосубстратов показало кандидоносительство у 15 (27,7%) подростков. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* высевались на слизистой полости рта – у 10 (18,5%), в кишечнике – у 5 (9,3%). Обсемененность биосубстратов грибами *Candida* составила от 1×10 до 4×10 КОЕ/г в кале. Культурально патогенных форм (почкующихся и мицелиальных форм) грибов рода *Candida* не находили. Результаты анкетирования учащихся показало, что 11 подростков (20,4%) проживают на первом этаже многоэтажных домов, у 6 (11,1%) подростков участок дома находится возле хлебопекарных цехов. Опрос учащихся выявило, что 28 (51,8%) подростков в анамнезе чаще переносили простудные заболевания, 15 (27,7%) – частые ангины, 6 (11,1%) – гепатит, по поводу чего получали противовирусные, антибактериальные препараты. Клинические осмотры подростков выявили следующие фоновые заболевания: гастрит – у 16 (29,6%), холецистит – у 4 (7,4%), диффузный зуб – у 5 (9,3%), конъюнктивит – у 4 (7,4%), ринит – 8 (14,8%), атонический дерматит – у 4 (7,4%).

Таким образом, у детей подросткового возраста отмечается повышенная чувствительность к микромицетам, особенно к дрожжеподобным грибам рода *Candida* и плесневым грибам рода *Penicillium*, *Mucor*. По-видимому, это связано с эндогенной и экзогенной интоксикацией организма грибами и продуктами их метаболизма. Основными факторами способствующими развитию повышенной чувствительности к грибковым аллергенам на наш взгляд является частые простудные заболевания, вторичная иммунологическая недостаточность, а также неблагоприятные условия быта и учебы, плохая вентиляция помещений, нерациональное питание детей.

МИКОТИЧЕСКАЯ АЛЛЕРГИЯ: МЕХАНИЗМЫ РАЗНООБРАЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ И ВАРИАНТОВ

*Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Титова Н.Д.
Витебский государственный медицинский университет
Институт аллергологии и клинической иммунологии, Москва
Белорусский государственный медицинский университет*

Генная предрасположенность к атопии, в том числе к грибковым аллергенам, давно известна и определяется группой генов, значение которых различно к их разным эпитопам. Одна из причин может быть в том, что «ослаблена» группа генов, определяющих синтез ферментов, рецепторов, других молекул, участвующих в элиминации грибов. Недостаточная, медленная естественная элиминация приводит к включению иммунного, а затем и аллергического ответа, особенно когда к нему на данный эпитоп существует предрасположенность.

Избыточная активация врожденной системы иммунитета и связанное с этим повреждение патогенов, выделение их антигенов приводит к индукции антигенспецифического иммунного ответа. Антигенпредставляющие клетки (АПК-макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты), мигрируют в регионарные лимфатические узлы, активируют нативные Т-лимфоциты, индуцируют Т-клеточный ответ. В зависимости от микроокружения и вида антигена может преобладать активность Т-х1 или Т-х2. Последние, выделяя ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, другие цитокины, усиливают синтез IgE и IgG антител и эозинофильную инфильтрацию, тогда как Т-х1, выделяют γ -интерферон, ИЛ-2, TGF β , а в итоге формируют аллергические реакции замедленного типа. ИЛ-4 запускает секрецию ИЛ-13, который выделяется более длительно и стимулирует синтез IgE.

Сложность строения и наличие различных компонентов в клеточной стенке грибов, в зависимости от конкретных условий обуславливает формирование преимущественно одного или другого вида реакций, однако они присутствуют постоянно. На начальных этапах распознаются не все антигены, поэтому выявляются IgE-антитела, реагирующие с «доминантными» антигенами, например, к *A. fumigatus* – Asp f1 и Asp f3, при прогрессировании процесса появляются антитела к Asp f2, Asp f4 и другим белкам (более 100) и их отдельным эпитопам. Это делает более разнообразным иммунный ответ и расширяет его патологические возможности. Тем более, что наряду с активацией Th-2, активируются новые эпитопспецифические клоны Th-1 типа. Поэтому обычный иммунный относительно ранний ответ при нарастающей стимуляции антигенами грибов (в случае прогрессирования процесса) неизбежно переходит в аллергический смешанного гуморально-клеточного харак-

тера. Так протекает аспергиллез и другие инвазивные грибковые процессы.

Несколько иной вариант аллергической реакции развивается на споры плесневых грибов, попадающих с воздухом в дыхательные пути, которые не индуцируют инвазивного процесса. Однако их большое количество и постоянное, круглогодичное поступление создает похожую антигенную – аллергенную стимуляцию. Варианты клинических реакций при этом – аллергические риниты, аллергическая грибковая астма. «Легкое фермера» – несколько иной ответ, связанный с участием определенного спектра грибов, по-видимому, активирующих секрецию ИЛ-11 и ИЛ-13, участвующих в ремодуляции легочной ткани, пролиферации эпителия и фиброзе.

Иммунопатогенез и механизмы развития грибковой аллергии и, следовательно, ее проявления, также зависят от источника аллергенов и вида гриба. Сенсibilизация к антигенам грибов, колонизирующих слизистую оболочку кишечника или кожу, как правило, не наблюдается при респираторной аллергии. Классический механизм развития гиперчувствительности I типа с активацией Th2 и преобладающим синтезом ИЛ-4 характеризует, прежде всего, состояния, связанные с реакцией на экзогенные аллергены. При кандидной колонизации у пациентов с atopической предрасположенностью в качестве основного патогенетического механизма может выступать не индукция лимфоцитарного ИЛ-4, а подавление ИФН- γ . При atopических реакциях, обусловленных эндогенной *Malassezia*-колонизацией, происходит сенсibilизация, независимая от IgE-опосредованных механизмов: захват аллергена дендритными клетками кожи с фенотипом CD1a+.

Грибковая сенсibilизация нередко сочетается с бактериальной, причем и та и другая проявляются немедленными и замедленными реакциями. Реакции немедленного типа, возможно, чаще индуцируют полисахаридные комплексы грибов, а замедленные – преимущественно белковые аллергены.

Аллергенами грибов могут быть различные их молекулы, структуры, ферменты.

Биохимическими методами из грибов выделено много различных компонентов, которые служат аллергенами. Их аллергенную значимость определяют в кожных тестах на больных с аллергией и в реакциях с IgE- и IgG-антителами. Получены моноклональные антитела против различных эпитопов аллергенов грибов.

Галактозамины, полисахариды имеются в клеточной стенке грибов и служат распространенными аллергенами. Хотя чистые полисахариды являются T-независимыми антигенами и индуцируют ответ B-лимфоцитов, примесь пептидов и липидов обеспечивает развитие всех видов иммунного ответа. Гликопротеины и протеогликаны интенсивно сенсibilизируют организм. Грибы продуцируют экзо- и эндотоксины, которые отличаются от бактериальных и тоже служат аллергенами.

Многие из них не только вызывают аллергические и аутоиммунные реакции, но могут служить иммуномодуляторами и иммуносупрессорами, подавляющими иммунный ответ, что обуславливает развитие иммунодефицита. Поэтому иммунодефициты и аллергия часто взаимосвязаны при микотической патологии.

Следует различать следующие клинические варианты аллергии к грибам:

I. Истинно атопические-аллергические реакции на споры и свободные аллергены (профессиональные) не связанные с микозами. Примеры клинических форм – аллергические риниты, бронхиальная астма, основой которых служат генетическая предрасположенность к атопии и поэтому одновременно могут наблюдаться другие аллергические реакции и болезни.

II. Инфекционно-аллергические реакции, развивающиеся на фоне микозов и ассоциированные с ними. Эти реакции возникают в связи с иммуномодулирующим действием антигенов грибов, которые пролиферируют, как правило, в условиях относительного или абсолютного иммунодефицита. Иммуномодуляция антигенами – аллергенами грибов приводит к стимуляции сенсibilизации отдельных звеньев системы иммунитета (антител, клеток) на фоне угнетения иммунорегулирующих механизмов. Клинические примеры – бронхолегочный аспергиллез, аллергические дерматиты и крапивницы на фоне онихомикозов и др.

III. Псевдоаллергические реакции как самостоятельный вид или сочетающиеся с предыдущими. Клинические формы аналогичны, но без очевидного участия антител. Развиваются за счет индукции неспецифической дегрануляции гранулоцитов (базофилов, эозинофилов, нейтрофилов), индукции активации T- и B-лимфоцитов суперантигенами грибов, или их апоптоза, а также альтернативного пути активации комплемента.

Для инфекционно-аллергических реакций, вызываемых грибами, характерно гранулематозное воспаление, относящееся к реакциям замедленного типа. Наряду с трансформированными макрофагами, гигантскими многоядерными и эпителиоидными клетками в инфильтратах вокруг грибковых зон некроза имеется скопление эозинофилов, по-видимому, отражающее образование эозинофильного хемотаксического фактора.

Клиника сапрофитной грибковой аллергии разнообразна. Наблюдаются риниты, конъюнктивиты, по проявлениям близкие к поллинозу, бронхиальная астма (БА), аллергические альвеолиты, поражения ЖКТ, дерматиты, крапивницы и др.

Многие грибковые заболевания сопровождаются аллергическими реакциями в виде микидов. Это безгрибковые поражения, которые чаще рассеяны по различным симметричным участкам тела. Причиной нередко являются микозы стоп. На их фоне развиваются безгрибковые

дисгидроподобные пузырьковые стерильные высыпания на кистях рук и в других местах. Встречаются и хронические шелушащиеся везикулярные формы, особенно при старых микозах ногтей и пальцев ног, которые иногда сопровождаются сильным зудом. Генерализованные эпидермофитиды могут проявляться в виде крапивницы или экссудативной эритемы с лихорадкой и интенсивным зудом.

В целом на аллергены грибов чаще можно выявить кожные реакции ПЧЗТ, чем ПЧНТ, хотя серологическими методами нередко находят антитела и иммунные комплексы.

Для диагностики грибковой аллергии необходимо сочетать провокационные пробы и лабораторные методы, так как любой из тестов может давать ложноположительные и ложноотрицательные результаты.

Для диагностики аллергии *in vitro* применяют определение IgE и IgG и IgA антител в сыворотке крови иммуноферментным методом, но титры антител обычно невысокие. Часть антител связаны с лейкоцитами и их выявляют в реакциях выброса ионов калия или миелопероксидазы. Сенсibilизацию лимфоцитов находят часто в РБТЛ, реакции ингибиции миграции лейкоцитов, тесте стимуляции ИЛ-2-рецепторов на лимфоцитах. Комплекс методов позволяет наиболее полно оценить наличие аллергии.

Для лечения клинических проявлений грибковой аллергии применяют весь арсенал противоаллергических средств. Если это микоз, но имеется первичный очаг микоза, то необходимо его лечение для ликвидации этого источника сенсibilизации. Противомикотическую терапию сочетают с антибактериальной, когда наблюдается осложнение бактериальной инфекцией.

При тяжелых общих аллергических реакциях всегда применяют глюкокортикостероиды, так как антигистаминные препараты недостаточно эффективны. Мази, в том числе комбинированные, используют при небольших очагах поражения.

Специфическая иммунотерапия (аллерговакцинация) аллергенами грибов, особенно рекомбинантными, является перспективным, но недостаточно разработанным направлением профилактики рецидивов аллергического заболевания, если грибы являются основной его причиной. Нередко грибковая аллергия сочетается с другими видами: бытовой, пищевой, химической. Используя аллерген *S. herbarum* для иммунотерапии, было получено уменьшение клинических симптомов у 81% детей с астмой и ринитом, имевших положительный прик-тест и RAST. Cantani A. et al (2002) сообщили о успешной иммунотерапии в 80% случаев аллергеном альтернативности у 79 детей при 3-летнем наблюдении. Уровень IgE-антител снижался, а IgG – увеличивался. Получены данные о применении рекомбинантных аллергенов грибов и показано, что их биологические свойства не отличаются от обычных.

РОЛЬ ГРИБОВ *MALASSEZIA FURFUR* ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

Соболев А.В., Котрехова Л.П., Гудкова Ю.И., Полухина О.Э.,
Шурницкая О.А., Колб З.К.
НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ГОУ ДПО СПб
МАПО Росздрава
Санкт-Петербург

Лечение атопического дерматита (АД) представляет всегда большие трудности, учитывая полиэтиологичность факторов, провоцирующих развитие заболевания. За последнее десятилетие рядом отечественных и зарубежных дерматологов было установлено, что некоторые виды грибов, в том числе рода *Malassezia*, вызывают развитие микогенной сенсibilизации у больных АД, что в свою очередь способствует развитию более тяжелого течения атопического дерматита. В некоторых случаях дрожжеподобные грибы рода *Malassezia* могут являться причиной обострения АД.

На базе дерматологического отделения НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина было проведено обследование 34 больных с АД в возрасте от 18 до 52 лет, у 8 (23,5%) больных при исследовании кожных чешуек из очагов поражения были обнаружены *Malassezia furfur*. Отличительными особенностями клинической картины АД у больных этой группы являлось выраженное отрубевидное шелушение кожи волосистой части головы, явление экссудации в складках кожи. При анализе анамнестических данных было установлено, что 6 из 8 пациентов отмечали появление мелких депигментированных пятен на шее, спине, в межлопаточной области после инсоляции в летний период. Течение АД у всех больных отличалось торпидностью к стандартным схемам терапии АД, включавшим десенсибилизирующие, дезинтоксикационные препараты и глюкокортикостероиды для местного применения. У всех больных содержание общего иммуноглобулина Е в крови превышало 1000 ЕД./мл. Также у всех 8 больных была выявлена эозинофилия ($6,7\% \pm 1,5\%$).

Всем 8 больным АД и малассезиозом кожи было проведено лечение системным антимикотиком — флуконазолом в дозе 400 мг на один прием и комбинированным препаратом с бетаметазоном, гарирамицином и клотримазолом. Все больные после окончания лечения отмечали уменьшение интенсивности зуда, чувства жжения. Также наблюдалось полное разрешение шелушения на волосистой части головы, экссудации в складках кожи. Уровень общего иммуноглобулина Е после проведенного лечения снизился на 27%. Динамики в содержании эозинофилов в периферической крови не отмечено.

Таким образом, можно предположить, что у больных АД дрожжеподобные грибы *Malassezia furfur* могут являться сенсibilизирующим

фактором и проведение антифунгальной терапии, направленной на элиминацию возбудителя отрубевидного лишая способствует улучшению течения АД.

ОСОБЕННОСТИ ГРИБКОВОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Титова Н.Д.

Белорусский государственный медицинский университет

В развитии и течении бронхиальной астмы важное место занимает грибковая сенсибилизация. Частота выявления сенсибилизации к грибам при БА по данным различных авторов варьирует от 30 до 60%.

Аллергенами грибов служат споры, поступающие из окружающей среды с воздухом. Споры грибов являются важнейшими аэроаллергенами. Их концентрация в воздухе Беларуси, России, особенно в регионах с влажным умеренным климатом, в сотни раз и более превышает концентрацию пыльцы растений. Важной особенностью этих аэроаллергенов является их круглогодичная персистенция. Причем они присутствуют в окружающей среде, в производственных помещениях и в квартирах. В домашней пыли — частом причинном факторе респираторной аллергии — ринитов, бронхиальной астмы имеется от 10000 до 10 млн спор плесневых грибов на 1 г.

Так как грибы содержат в клеточных стенках меньше белков и липидов по сравнению с бактериями, но больше углеводных компонентов, считается, что выраженность специфических реакций иммунитета меньшая, титры IgG-антител невысокие, а накапливаются IgE-антитела и формируется устойчивая гиперчувствительность замедленного типа. Гликопротеины и протеогликаны грибов сенсибилизируют организм, причем за гиперчувствительность замедленного типа ответственна белковая часть гликоконъюгата, а углеводная часть — за гиперчувствительность немедленного типа.

Мы обследовали 109 детей в возрасте от 3 до 14 лет больных БА различной степени тяжести и 20 детей контрольной группы. Все дети были обследованы клинически и лабораторно. Определяли спектр антител в крови IgE, IgG4, IgA, а также сенсибилизацию гранулоцитов в реакции выброса миелопероксидазы и лимфоцитов в тесте стимуляции ИЛ-2 рецепторов к грибковым аллергенам (*Alternaria tenuis*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium*, *Rhizopus nigricans*).

У 76,1% (83) из 109 детей имелись положительные реакции хотя бы к одному из аллергенов. Из них более половины 59% (49) имели смешанный вариант ответа — у них определялись различные варианты сочетания IgE-антител и/или IgG4, IgA антител и/или сенсибилизации

лейкоцитов и лимфоцитов. Аллергический ответ только по IgE-типу на грибковые аллергены отмечался у 12% детей. У 29% детей аллергические реакции на грибковые аллергены протекали без участия IgE-антител. Таким образом, у детей с БА к грибковым аллергенам развиваются различные типы и комбинации аллергических реакций с участием как IgE-, IgA-, IgG4- антител, так и сенсibilизированных нейтрофилов и лимфоцитов.

Реакции на грибковые аллергены с участием IgE-антител

В сыворотке крови 34,8 % (38) обследованных детей с аллергической БА были найдены IgE-антитела к аллергенам какого-либо из плесневых грибов. У 63% из них имелась сенсibilизация к одному аллергену, а у остальных — к нескольким, что чаще всего отмечалось аллергенам грибов родов *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Aspergillus*.

Реакции на аллергены грибов, опосредуемые IgG4-антителами

IgG4-антитела к аллергенам хотя бы одного вида плесневых грибов имели 39,4% (42) детей, причем более половины из них были сенсibilизированны только к одному виду грибов. Также как и IgE-антитела, IgG4-антитела чаще находили к грибам рода *Alternaria tenuis* — у 42,9% (18) детей.

Реакции на аллергены грибов с участием IgA-антител

У 33,0% (36) детей с БА обнаруживались IgA-антитела в сыворотке крови. Часто одновременно встречались антитела к грибам рода *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*.

Сенсibilизацию лимфоцитов к грибковым аллергенам имели 22,9%(25) детей. К *Alternaria tenuis* лимфоцитарная сенсibilизация была найдена у 56%(14) всех детей.

С возрастом у детей в сыворотке крови увеличивается частота выявления IgE, IgG4, IgA антител к аллергенам грибов. Так, среди детей 12–14 лет достоверно чаще, чем у детей 1 группы выявляются IgE, IgG4, IgA-антитела к грибковым аллергенам. Это особенно характерно для IgA-антител, что может быть связано со сниженным синтезом иммуноглобулина А у детей младшего возраста. Что касается сенсibilизации лейкоцитов и лимфоцитов, то возрастных различия не были статистически достоверны.

Данные обследования контрольной группы детей (n=20): у 3 детей были выявлены IgA антитела к *Alternaria tenuis*, у 1 — сенсibilизация лейкоцитов к *Candida albicans*, и у 1 лимфоцитарная сенсibilизация к *Rhizopus nigricans*. Однако, необходимо отметить, что уровень антител у всех детей контрольной группы не был больше 700 EU.

В дальнейшем был проведен анализ показателей аллергических реакций на грибковые аллергены каждого ребенка с БА, что позволило выявить следующее: Из 83 детей, реагировавших положительно на аллергены грибов, более половины 59% (49) имели смешанный вариант ответа — у них определялись различные варианты сочетания IgE-антител и/или IgG4, IgA антител и/или сенсibilизации лейкоцитов и лим-

фоцитов. Учитывая то, что у детей преобладала полисенсibilизация к грибковым аллергенам, и то, что на каждый аллерген могли выявляться различные варианты аллергических реакций с участием как антител разных классов так и сенсibilизированных гранулоцитов и лимфоцитов, было проведен анализ с целью выявить преимущественный механизм ответа на грибковые аллергены у каждого из 83 детей.

Ответ только по IgE типу на аллергены грибов был выявлен всего у 10 детей, (т.е. у этих детей на различные виды грибковых аллергенов определялись только антитела класса E). Только IgG4-антитела имелись у 2 детей, IgA – у 8 детей. Сенсibilизация лейкоцитов (в PBM и/или PBK) – у 12 детей, сенсibilизация лимфоцитов – у 2.

Преимущественное наличие IgE и IgG4-антител к грибковым аллергенам в сочетании с сенсibilизацией лейкоцитов (по PCK и/или PBM) было найдено у 19 детей, с сенсibilизацией лимфоцитов (без лейкоцитарной сенсibilизации) – у 7. Еще у двух детей выявлялись одновременно IgE и IgG4-антитела к грибковым аллергенам, а также сенсibilизация лейкоцитов и лимфоцитов. Необходимо отметить, что у половины (14) детей с IgE и IgG4-антителами к грибковым аллергенам определялись и IgA-антитела к этим же аллергенам.

При отсутствии IgE-антител, IgG4- и IgA-антитела в сыворотке крови и антитела, связанные с гранулоцитами («гранулоцитарный» вариант), присутствовали у 7 детей.

Сочетание IgG4- и IgA-антител и сенсibilизации лимфоцитов имело место у 5 детей. У двух детей было наличие IgA-антител и сенсibilизации лимфоцитов.

Преимущественная сенсibilизация лимфоцитов и лейкоцитов к грибковым аллергенам имела место у 7 детей.

Таким образом, участие IgE-антител в развитии аллергических реакций к грибковым аллергенам имело место всего у 45,8% (38) детей из 83, причем чисто IgE-зависимый механизм (т.е. без участия антител классов IgG4 и IgA, сенсibilизированных лейкоцитов и лимфоцитов) отмечен только у 12%(10) сенсibilизированных к грибковым аллергенам детей. У 25,3%(21) из 83 ребенка ведущую роль в развитии грибковой аллергии играли сенсibilизированные лейкоциты и/или лимфоциты. Полученные данные указывают на разнообразие механизмов грибковой аллергии при БА у детей.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Фролова Н.А.

Смоленская государственная медицинская академия

Нами был изучен количественный и качественный состав фекальной микрофлоры у 54 детей раннего возраста, с аллергическим дерматитом. Явления дисбактериоза присутствовали в 95,0±3,1% случаев. Лишь у 5,0±3,0% детей микрофлора кишечника оставалась без изменений. В анамнезе данные за дисбактериоз были выявлены у 19,0±2,2%, причем изменение этого показателя как в группе детей в возрасте от 0 до 1 года, так и от 1 года до 3 лет колебалось незначительно: 19,6±3,3% и 16,0±3,2% соответственно. У детей с легким течением аллергического дерматита (53,0±7,0%) изменения микрофлоры были слабо выраженными. Более глубокие изменения кишечной микрофлоры наблюдались у детей, с выраженным аллергическим дерматитом, что составило 47,0±7,0%. При этом в возрастной группе от 0 до 1 года преобладали явления дисбактериоза II–III степени (65,7±9,1%). У этих детей наряду со снижением содержания бифидобактерий до 10⁶–10⁷ КОЕ/г, лактобактерий до 10⁴ КОЕ/г отмечалось обнаружение ассоциаций условно патогенных микроорганизмов в концентрации 10⁶–10⁷ КОЕ/г, в том числе грибы рода *Candida* были обнаружены у 42,3% детей в количестве 10⁵–10⁶ КОЕ/г. Эти явления преобладали над дисбактериозом I степени (34,3±9,0%).

В группе от 1 года до 3 лет дисбактериоз I степени преобладал над выраженными микробиологическими изменениями. У 63,9±5,4% детей в этой возрастной группе отмечалось снижение содержания бифидобактерий до 10⁸ КОЕ/г, лактобактерий до 10⁵–10⁶ КОЕ/г, типичных эшерихий до 10⁶ КОЕ/г, у 12,9 % детей этой группы были обнаружены грибы рода *Candida* в концентрации 10³–10⁴ КОЕ/г. В 36,1±5,4% случаев выявлены выраженные изменения микрофлоры кишечника: снижение содержания бифидобактерий до 10⁶–10⁷ КОЕ/г, лактобактерий до 10⁴ КОЕ/г и обнаружены ассоциации условно патогенных микроорганизмов в высоких концентрациях 10⁶–10⁷ КОЕ/г, в том числе грибы рода *Candida* были выделены у 24% детей в количестве 10⁵ КОЕ/г.

Таким образом у детей с аллергическим дерматитом одновременно выявлялось снижение числа анаэробных представителей облигатной микрофлоры, обладающих высокой антагонистической активностью, и увеличение числа грибов рода *Candida*, которые были обнаружены в различных концентрациях у 79,2% всех обследованных детей.

Основываясь на результатах нашего исследования можно предположить, что при развитии дисбиотических изменений в толстой кишке

создаются благоприятные условия для размножения условно патогенных микроорганизмов, в том числе грибов рода *Candida* которые в свою очередь, способствуют сенсibilизация организма.

РОЛЬ МИКОГЕННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ В РАЗВИТИИ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ

Чапленко Т.Н., Ландышев Ю.С., Лазуткина Е.Л.
Амурская государственная медицинская академия,
Амурская областная клиническая больница
Благовещенск

Эпидемиологические и клинические исследования выявили высокую распространенность микогенной аллергии при бронхиальной астме. По данным ряда исследователей с гиперчувствительностью к ряду плесневых грибов связывают тяжелое течение бронхиальной астмы.

Грибы могут вызывать заболевания тремя путями: прямая инвазивная инфекция преимущественно у больных с серьезными иммунодефицитными, аллергические реакции на грибы, которые обусловлены вдыханием или попаданием на слизистые оболочки частиц плесневых грибов, микотоксикозы, возникающие в результате поступления через желудочно-кишечный тракт токсинов.

Установление диагноза микогенной аллергии является довольно трудной задачей. Развитию четких представлений об аллергии к грибам мешает слишком большое разнообразие потенциально аллергенных грибов, нестабильность и вариабельность их аллергенов, отсутствие соглашения по современной номенклатуре грибов и не всегда адекватный выбор материала-источника для приготовления аллергена.

Аллергические реакции от воздействия плесневых грибов на легочную ткань хорошо описаны в очень широком диапазоне: от воспаления верхних дыхательных путей (риниты) с сопутствующим конъюнктивитом до тяжелой бронхиальной астмы, аллергического бронхолегочного аспергиллеза и экзогенного аллергического альвеолита.

Данные кожного тестирования позволяют предполагать, что минимально от 3 до 10% взрослых и детей во всем мире имеют аллергию к грибам. Одного четкого установленного уровня алергизации нет, и в разных работах приводится различная частота, которая может составлять от 3 до 91% — в зависимости от обследованной популяции и аллергенов, использованных для тестирования, и видов грибов.

Аллергические реакции на грибковые аллергены, затрагивающие нижние дыхательные пути, встречаются более часто, чем пыльцевая аллергия. Это доказано провокационными тестами, когда при ингалировании спор или их экстрактов, возникал бронхоспазм. Нереспира-

торные проявления микогенной аллергии такие как, пищевая аллергия или контактная крапивница встречаются реже.

До настоящего времени неизвестен удельный вес грибковой аллергии среди жителей г. Благовещенска.

В работе проведено исследование для уточнения удельного веса микогенной сенсibilизации среди больных аллергическим ринитом и атопической бронхиальной астмой.

Материалы и методы. Проведено комплексное обследование 52 больных аллергическим ринитом (АР) и 98 больных аллергической формой бронхиальной астмой (АБА). При постановке диагноза учитывали особенность аллергологического анамнеза в сочетании с анализом результатов прик тестов с грибковыми аллергенами – *Penicillium notatum*, *Aspergillus fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Candida albicans*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria tenuis*, *Fusarium moniliforme*, *Cladosporium herbarum* (Allergopharma, Германия). Кожные прик тесты проводили с использованием стандартных ингаляционных аллергенов (Allergopharma, Германия). Функцию внешнего дыхания оценивали на спирографе «Fucuda» (Япония), с проведением бронходилатационного теста (200 мг сальбутамола).

Результаты исследований статистически обработаны с применением пакета программ «STATISTICA 6».

Результаты и обсуждения.

При анализе результатов обследования выявлено, что наибольший удельный вес больных с микогенной сенсibilизацией среди больных с интермиттирующим АР – 62% и персистирующим АР – 58% (рис.1).

АР интермиттирующий АР персистирующим АБА



Рис. 1. Удельный вес микогенной сенсibilизации при респираторной аллергии

При проведении аллерготестирования с использованием прик тестов среди пациентов выявлена сенсibilизация к клещам домашней пыли – *Dr. pteronissimus* 82%, *Dr.f arinae* 65%; эпителию кошки 18%, эпителию собаки 11%, микст сорных трав 41%, микст деревьев 20%, микст злаковых трав 16%

Положительные тесты с микст плесневых грибов выявлены среди 31% больных, из них с *Penicillium notatum* – 14%, с *Aspergillus fumigatus* – 19%, с *Botrytis cinerea* – 8%, с *Candida albicans* – 10%, с *Rhizopus nigricans* – 24%, с *Alternaria tenuis* – 18%, с *Fusarium moniliforme* – 9%, с *Cladosporium herbarum* – 13% (рис. 2).

Среди больных АР преобладала сенсibilизация к *Alternaria tenuis*, *Aspergillus fumigatus*, в то время как при АБА ведущую роль в развитии сенсibilизации играли *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum*.

Изолировано только аллергия к плесневым грибам наблюдалась у 6% больных с аллергическим ринитом. Наиболее часто имеет место сочетание микогенной и пыльцевой аллергии (сорные травы).

Из особенностей клинической картины на фоне микогенной сенсibilизации у больных с аллергическим ринитом имело место сочетание с сенсibilизацией к сорным травам, клещу домашней пыли.

У 44% больных с АБА, 32% с АР отсутствовали клинические признаки микогенной сенсibilизации при положительных кожных тестах.

Спектр микогенной сенсibilизации по данным аллерготестирования

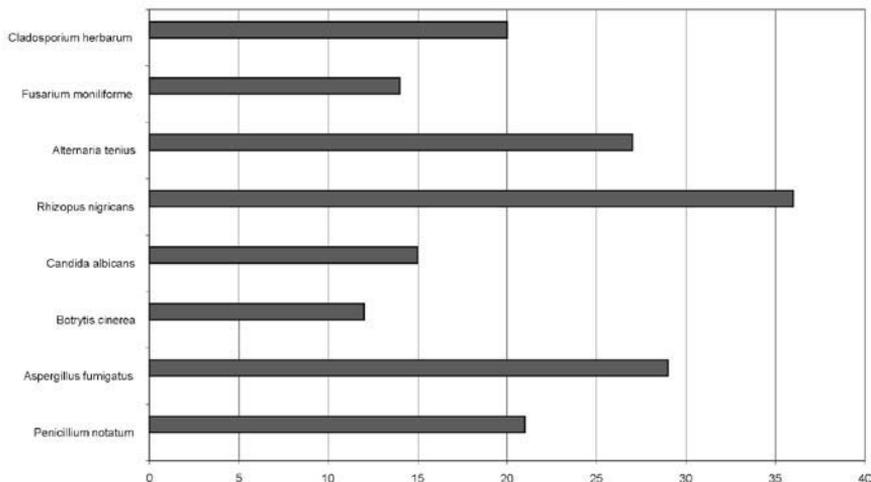


Рис. 2

При анализе социо-экономических факторов выявлено, что микогенная сенсibilизация чаще возникает среди женщин, в возрасте от 28–35 лет, с сопутствующим атопическим дерматитом, патологией желудочно-кишечного тракта, онихомикозом.

Выводы. Микогенная сенсibilизация занимает ведущую роль, наряду с бытовой и пыльцевой сенсibilизацией в развитии симптомов респираторной аллергии.

Глава 4

МИКОТОКСИКОЗЫ И ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ

ПРОБЛЕМЫ НАКОПЛЕНИЯ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИХ МИКРОМИЦЕТОВ В ЗЕРНЕ И СЕМЕНАХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Бабаянц О.В.

*Селекционно-генетический институт — Национальный центр
семеноведения и сортоизучения УААН
Одесса, Украина*

В степной зоне Украины на протяжении многих лет нами проводятся исследования заболеваний зерна и семян озимой пшеницы — стратегической культуры страны. Известно, что от качества семян зависит будущий урожай, а от качества зерна, соответственно, продукты его переработки. Например, эпифитотии фузариоза колоса озимой пшеницы по нашим наблюдениям приводили к 100% потере урожая (1988 г.) — в таких случаях посевы были сожжены на корню. Ежегодно локально фиксируются очаги фузариоза колоса с недоборами урожая от 15 до 30% (Бабаянц, 2003). С каждым годом увеличивается общая заселенность зерна и семян различными микромицетами, некоторые из них известны как активные токсинообразователи, например, виды рода *Fusarium* Link., *Bipolaris sorokiniana*, *Stachybotrys alternans*, *Trichothecium roseum*, *Alternaria alternata*, ряд других. В зависимости от складывающихся погодных условий во время вегетации и в период созревания хлебов и сбора урожая общая зараженность зерна фитопатогенами варьирует как по количественному, так и по качественному (видовому) составу. На зараженность зерна оказывает существенное влияние ухудшение фитосанитарного состояния сельскохозяйственных угодий, важную роль также играет уровень устойчивости — восприимчивости возделываемого сорта.

По данным отдела фитопатологии и энтомологии СГИ в последние 5 лет общее количество зараженного грибной инфекцией зерна и семян озимой пшеницы возросло в несколько раз. По результатам фитопатологической экспертизы из 1500 образцов зерна пшеницы урожая 2004 г. непораженного не обнаружили. При этом 65% образцов имели высокую степень поражения (от 35 до 80%), 15% были поражены средне (от 15 до 34%) и лишь 25% были слабо поражены, причем в основном уровень поражения был в пределах 10%. Такая ситуация усугублялась еще и тем, что среди видов патогенов наибольшее количество было *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*, представителей рода *Fusarium*, а также т.н. грибов хранения — видов родов *Aspergillus* и *Penicillium*.

Наибольшую опасность для человека и животных представляет заражение зерна грибами р. *Fusarium*. Для степи Украины наиболее характерны и часто встречаемы виды *Fusarium graminearum* Shwabe, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. macroceras*. Среди видов наиболее высокой патогенностью отличаются

ся *Fusarium graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. poae*, а смешанные популяции из этих видов обладают патогенностью еще большей степени. Выделенные нами изоляты всех выше названных видов, в большей или меньшей степени, являются продуцентами диоксиниваленола, зеараленона, диацетоксискирпенола, F-3-токсина, фузаренона-Х, Т-1 и Т-2-токсина, НТ-2 токсина, Т-2-триола, споротрихина, неосоланиола, бутенолида и vomitоксина. Уровень токсинообразования меняется в процессе вегетации растений и не всегда совпадает со степенью поражения.

Как правило, раньше наиболее часто встречаемыми и опасными для озимой пшеницы возбудителями болезней колоса и зерна в степи Украины были фузари, но в последние годы наблюдается изменение в соотношении выделяемых патогенов. Основным видом, который был доминирующим на зерне пшеницы в 2002 – 2003 гг. оказался *Alternaria alternata* – возбудитель «черного зародыша» (частота встречаемости в разных образцах от 23 до 50%). Среди зерна с признаками почернения зародышевой области зерновки кроме альтернрии часто выделялся *Bipolaris sorokiniana* (част.встр. от 5 до 20%), реже – *Cladosporium* spp. Основное количество выделенных изолятов *Alternaria alternata* проявили значительную патогенность и высокую токсинообразующую способность. Известно, что этот грибок способен продуцировать токсины альтернариоль, альтертенуол, альтенцен, альтенузин, тенуазоловую кислоту. В настоящее время определяются виды токсинов выделенных изолятов. Заметно изменение в уровне патогенности в сторону увеличения этого показателя среди выделенных изолятов 2004–2005 гг. в сравнении с 1999–2003 гг. Так, среди 120 выделенных в 1999–2003 гг. изолятов *Alternaria alternata* высокий уровень патогенности проявили лишь 11 из них, что составляет 8%, среднепатогенными были 45(38%), слабо патогенных выделили 35, т.е. 29%, все остальные (25%) изоляты имели даже выраженный стимулирующий эффект. Иная картина сложилась среди 180 изолятов, выделенных в течение 2004–2005 гг. Высокий уровень патогенности проявили 45% из них, непатогенных было лишь 7%, со стимулирующим эффектом выделено не было ни одного. Мы предполагаем, что патогенность *Alternaria alternata* будет усиливаться и в будущем.

Среди выделенных изолятов *Bipolaris sorokiniana* высокопатогенных и патогенных не обнаружено. Более 75% из них проявили слабую патогенность, остальные были непатогенны. Однако, мы считаем вполне вероятным усиление патогенности и токсикогенности этого гриба в будущем.

Помимо описанных выше патогенов потенциальную опасность для урожая пшеницы могут представлять как минимум, еще 10 видов. Для своевременного их выявления и предупреждения нами проводится постоянный мониторинг.

В решении проблемы получения экологически безопасной, не загрязненной микотоксинами зернопродукции важен постоянный контроль как качества конечного продукта — зерна, так и всех процессов выращивания зерновой культуры. Без научно обоснованного подхода к выращиванию озимой пшеницы на каждом этапе — от подготовки почвы, подбора сорта, подбора интегрированной системы защиты культуры от болезней, вредителей и сорняков до сбора и правильного хранения урожая невозможно добиться положительных и стабильных результатов.

ЦИКЛОПИАЗОНОВАЯ КИСЛОТА: ПРОДУЦЕНТЫ ИЗ РОДА *ASPERGILLUS* MICH.XX LK. В СОСТАВЕ МИКОБИОТЫ КОРМОВ

Буркин А.А., Пирязева Е.А., Кононенко Г.П., Малиновская Л.С.
ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва

Важнейшим показателем санитарного качества кормов для сельскохозяйственных животных является их пораженность грибами рода *Aspergillus*, которые способны образовывать широкий спектр токсичных метаболитов. Для отдельных представителей вида *A. versicolor* (Ohmoto et al., 1973), видов группы *Aspergillus flavus* — *A. flavus* (Luk et al., 1977; Gallagher et al., 1978), *A. oryzae* (Yokata et al., 1981) и *A. tamarii* (Dorner, 1983), а также для *A. fumigatus* и *A. clavatus* (Хмельницкая и др., 2003) установлена способность к биосинтезу циклопиазоновой кислоты (ЦПК). Распространенность грибов этого рода в комбикормах может достигать 99% и при этом их видовой состав является весьма разнообразным (Малиновская, Овчинникова, 1989). Микологические исследования показали, что доминирующими в кормах являлись виды *A. candidus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, а также виды группы *Aspergillus glaucus*; в меньшей степени были представлены виды *A. niger*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. ochraceus*, *A. fumigatus*, *A. clavatus*, *A. parasiticus* и крайне редко встречались *A. sulfureus* и *A. giganteus*.

Целью данной работы была сравнительная оценка способности продуцировать ЦПК видами, относящимися к 10 группам рода *Aspergillus* (на данном этапе работы видовая идентификация проведена не во всех случаях), выделенными из различных видов зерна, шрота подсолнечного, глютена кукурузного, барды сухой и комбикормов. Количество токсина в мицелии грибов определяли методом непрямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа с последующей балльной оценкой массовых концентраций токсина в экстрактах: 10–100 нг/мл (I), 100–1000 нг/мл (II), более 1000 нг/мл (III) и значительно более 1000 нг/мл (IV). Участки мицелия 7–12 суточной культуры гриба, выращенной на суловом агаре, площадью 0,25 см² экстрагировали 0,5 мл

смеси ацетонитрила и воды в объемном соотношении 6:1 и полученный экстракт перед анализом разбавляли буферным раствором (1:10).

Абсолютное большинство изолятов из группы *Aspergillus flavus* 162/201 (80,6%) обладали способностью образовывать ЦПК, при этом большинство из них (61,1%) относились к II типу, на долю продуцентов I и III типов приходилось 15,4% и 21,6%, соответственно, и 1,9% изолятов принадлежали типу IV. Вместе с тем, среди 6 изолятов вида *A. parasiticus* Spreare, относящегося также к группе *Aspergillus flavus*, продуценты токсина выявлены не были, что согласовывалось с ранее опубликованными данными (Klich, Pitt 1988; Pandey et al., 1989). Для другого широко распространенного вида *A. candidus* Link:Fr. и видов группы *Aspergillus glaucus* токсинообразующие свойства были выражены существенно слабее. Продуцентами оказались только два из 38 (5,3%) изолята *A. candidus*, относящиеся к I и II типам, и семь из 136 (5,1%) изолятов аспергиллов группы *Aspergillus glaucus*, пять из которых соответствовали II типу и два – III.

Среди изолятов реже встречающихся видов были выявлены только слабые продуценты I типа. Частота токсинообразования была весьма выраженной у видов групп *Aspergillus niger* (9/11) и *Aspergillus terreus* (5/10), тогда как у видов групп *Aspergillus wentii* (1/5), *Aspergillus nidulans* (1/8) и *Aspergillus fumigatus* (1/8) – представлена единичными случаями. Один из четырех изученных изолятов *A. clavatus* Desm. образовывал токсин в количестве 1000 нг/мл. Два изолята *A. sulfureus* (Fres.) Thom et Church оказались продуцентами ЦПК, у *A. giganteus* Wehm. (0/2) токсигенность не была обнаружена. Факт образования ЦПК изолятами, относящимся к группам *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* и *Aspergillus nidulans*, сообщается впервые.

Среди изученных изолятов методом иммуноферментного анализа были выявлены Бродуценты афлатоксина В1, стеригматоцистина, ократоксина А и цитринина.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* LK.: ПОТЕНЦИАЛ БИОСИНТЕЗА Т-2 ТОКСИНА И ДИАЦЕТОКСИСЦИРПЕНОЛА

Буркин А.А., Пиряева Е.А., Малиновская Л.С., Кононенко Г.П.
ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва

Диацетоксисцирпенол (ДАС) [4,15-диацетокси-3-гидрокси-12,13-эпокситрихотец-9-ен], впервые идентифицированный в составе метаболитов *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. (Brian et al., 1961), в последующие годы был найден у отдельных представителей еще 17 видов – *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum*,

F.moniliforme, *F.oxysporum*, *F.poaе*, *F.sambucinum*, *F.semitectum*, *F.solani*, *F.sporotrichioides*, *F.tricinctum*, *F.tumidum*, *F.compactum*, *F.camptoceras* и *F.venenatum*, выделенных из самых разных объектов. Сведения относительно образования этого токсина видами фузариев, участвующих в поражении зерна, остаются весьма ограниченными.

Целью данной работы было сравнительное изучение способности к биосинтезу Т-2 токсина и ДАС изолятами *F.acuminatum*, *F.avenaceum*, *F.graminearum*, *F.moniliforme*, *F.poaе*, *F.sambucinum*, *F.semitectum*, *F.sporotrichioides*, *F.equiseti* и *F.tricinctum* из состава микобиоты зерна, возделанного на территории Российской Федерации. Видовая идентификация изолятов была проведена в соответствии с таксономической системой С.Booth (1971).

Измерения концентрации токсинов в экстрактах мицелиальной биомассы, полученной культивированием фузариев на суловом агаре в течение 7–10 суток, проводили методом непрямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа. Для определения ДАС в качестве иммунореагентов были использованы поликлональные кроличьи антитела к конъюгату бычьего сывороточного альбумина (БСА) и гемисукцината токсина, синтезированному методом активированных эфиров, и иммобилизованный конъюгат того же гаптена с желатином, полученный карбодиимидной конденсацией. Перекрестная реактивность антител к БСА-ДАС в отношении структурно близких трихотеценов – Т-2 токсина, НТ-2 токсина, неосоланиола и 4-дезоксиниваленола не превышала 0,1%. Для анализа Т-2 токсина была использована тест-система, описанная ранее (Кононенко и др., 1999). Предел измерения массовых концентраций токсинов в экстрактах составил 4 нг/мл.

Результаты показали, что образование ДАС является характерным свойством видов *F.poaе*, *F.sporotrichioides* и *F.equiseti*, у которых на долю продуцентов приходится 85,5% (65 из 76 изолятов), 75,5% (34/45) и 63,2% (24/38) соответственно. Вид *F.poaе* среди них занимает особое положение: большинство продуцирующих изолятов – 76,9% (50/65) – способны к накоплению ДАС в количествах более 100 нг/мл. У двух других видов преобладают продуценты с уровнями накопления токсина от 4 до 100 нг/мл. По интенсивности биосинтеза Т-2 токсина *F.sporotrichioides* превосходил остальные виды – все изоляты без исключения были продуцентами и большинство из них накапливали токсин в количествах более 1000 нг/мл. У *F.poaе* доля продуцентов составляла 7,9% (6/76), уровни токсина в экстрактах – от 4 до 100 нг/мл.

Виды *F.tricinctum* и *F.semitectum* имели слабо выраженную способность к образованию ДАС как по уровням накопления (4–20 нг/мл), так и по числу продуцентов в выборках – 8 из 23 и 4 из 20 соответственно. Виды *F.avenaceum* (49 изолятов), *F.graminearum* (28 изолятов) и *F.acuminatum* (23 изолята) не обладали этой способностью.

В выборке из 13 изолятов *F.moniliforme*, сформированной без уточнения подвидов, и среди 4 изолятов *F.sambucinum* продуценты также выявлены не были.

ЦИТРИНИН: ПЕРВЫЕ ОЦЕНКИ РИСКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ КОРМОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (2003–2005)

*Буркин А.А., Кононенко Г.П.
ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
Москва*

Известно значительное видовое разнообразие продуцентов цитринина, относящихся к родам *Penicillium* (*P.expansum* Link., *P.citreonigrum* Dierckx, *P.verrucosum* Dierckx chemotype II), *Aspergillus* (*A.candidus* Link., *A.carneus*, *A.terreus* Thom) и *Monascus* (*M.purpureus*, *M.ruber*), которые способны активно развиваться практически на всех видах продукции агропроизводства и животноводства. Тем не менее до последнего времени были описаны лишь единичные случаи его обнаружения в продовольствии и кормах, преимущественно совместно с охратоксином А (Weidenborner, 2001). Первые попытки выборочного контроля зерна и кормов были начаты недавно на основе разработанных в 1995-99 гг. приемов иммуноферментного анализа (Vrabcheva et al., 2000; Ahmad, Vairamuthu, 2000).

В данной работе проведена оценка загрязненности цитринином кормового сырья и готовых кормов, используемых наиболее интенсивно развивающимися животноводческими отраслями в Российской Федерации. Контроль объектов осуществляли в период 2003–2005 гг. на 477 образцах готовых рационов для животных (комбикормов и кормосмесей), 78 образцах кормовых добавок и 712 образцах кормового сырья (зерна, жмыха, шротов, кукурузного глютена и пшеничных отрубей). Метод непрямого конкурентного иммуноферментного анализа на основе поликлональных кроличьих антител к бычьему сывороточному альбумину, конъюгированному с цитринином формальдегидной конденсацией, обеспечивал чувствительность определения 10 мкг/кг.

В комбикормах и кормосмесях частота выявления цитринина по годам составляла 15,4%, 7,1% и 6,1%, и в среднем за весь период – 9,2% (44/477). Диапазону уровней его содержания от 12 до 182 мкг/кг соответствовало среднее значение 49,1 мкг/кг. Более половины контаминированных образцов (29 из 44) наряду с цитринином содержали охратоксин А.

Среди белково-витаминно-минеральных добавок положительными были только два образца с низкими уровнями контаминации 18 и 35 мкг/кг.

Частота выявления цитринина в зерне пшеницы составила всего 5,2% (в 10 образцах из 192, для ячменя и кукурузы была еще меньше – 2,1% (2/93) и 2,4% (3/122), соответственно. Уровни загрязнения зерна пшеницы 86,4 мкг/кг (50–144 мкг/кг) и ячменя (63 и 83 мкг/кг) были близкими, тогда как во всех трех контаминированных образцах куку-

рузного зерна они оказались на порядок выше – 218, 830 и 953 мкг/кг. Во всех положительных образцах зерна, кроме одного, присутствовал и охратоксин А.

Цитринин был найден только в одном образце пшеничных отрубей из 23 обследованных в количестве 50 мкг/кг. Во всех 5 положительных образцах кукурузного глютена из общего числа 34 уровни загрязненности находились в интервале 16–57 мкг/кг. Частота обнаружения цитринина в соевом шроте составила всего 1,5% (2/132) при низком содержании – 14 и 30 мкг/кг.

Для продукции переработки подсолнечника масштабы загрязненности были более значительными – цитринин был выявлен в 33 образцах из 116 исследованных, т.е. в 28,4% случаев. Диапазону уровней от 14 до 300 мкг/кг соответствовал средний показатель 66,0 мкг/кг. Как правило, имела место совместная контаминация с охратоксином А – в 30 из 33 образцов.

ИЗУЧЕНИЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ Т-2 ТОКСИНА И ДЕЦИСА

Галютдинова Г.Г., Егоров В.И., Тремасов М.Я.
*ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной
безопасности»*
Казань

Одним из важных разделов работы в направлении ветеринарного благополучия хозяйств является надзор за качеством и безопасностью кормовой базы, так как корм может стать источником и носителем большого числа потенциально опасных и токсических веществ химической и биологической природы. Вред, наносимый пестицидами живой природе, не поддается точной оценке – но совершенно точно можно сказать, что он огромен. Главное значение здесь имеют два фактора: то, что синтетические пестициды – вещества, чуждые живой природе и недоступные метаболическому разложению и то, что практически все они способны к биоаккумуляции, то есть содержатся в живых организмах в более высоких концентрациях, чем в среде. Особенно уязвимым как у животных, так и у птиц оказался процесс размножения, а ведь неспособность принести здоровое и многочисленное потомство для вида равносильно гибели. Среди микотоксинов наиболее опасным для животных является Т-2 токсин, который вырабатывается грибами рода *Fusarium*. К Т-2 токсины восприимчивы крупный рогатый скот, свиньи, овцы и другие виды животных.

К сожалению, на сегодняшний день не установлены максимально допустимые уровни большинства синтетических пестицидов как отдельно, так и в сочетании с токсикантами природного происхождения (микотоксины) в продуктах растениеводства и животноводства. Одним из наиболее распространенных ядов из группы синтетических пиретроидов является – децис.

Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия дециса осуществляли путем ежедневного введения внутрь крысам данного яда (с 1 по 20 день беременности) в дозе 0,01 мг/кг массы тела. Контрольная группа получала растительное масло.

Результаты, полученные в опытной группе, не отличались от таковых в контрольной ($P > 0,05$). У крыс опытной группы число желтых тел составляло $12,12 \pm 0,02$, количество мест имплантата $9,22 \pm 0,88$, количество живых и мертвых плодов $8,80 \pm 0,22$, $0,48 \pm 0,009$, кранио-каудальный размер плодов $3,11 \pm 0,22$, масса плодов $2,49 \pm 0,004$, у грызунов контрольной группы – соответственно $12,14 \pm 0,02$, $9,69 \pm 0,004$, $8,96 \pm 0,17$, $0,47 \pm 0,007$, $3,12 \pm 0,006$, $2,5 \pm 0,004$.

В опытах по изысканию тератогенного действия дециса при визуальном осмотре плодов, извлеченных из матки, видимых аномалий развития (уродств) не отмечали. При осмотре состояния внутренних органов по методу Вильсона (1965) аномалий развития не обнаруживали. Соотношение полов (ж/м) в опытной и контрольной группах составляло соответственно $1,25 \pm 0,04$ и $1,21 \pm 0,05$.

При изучении процессов оссификации у эмбрионов по методу Дасона дефектов скелетов не установили, в опытной группе по сравнению с контрольной не отмечали достоверных различий в количестве костей во всех отделах скелета плодов.

После рождения крысята физиологически развивались нормально. В опытных и контрольных группах аномалии развития отсутствовали.

Следовательно, децис в концентрации 0,01 мг/кг массы тела при ежедневном скармливании не оказывал эмбриотоксического и тератогенного действия.

При ежедневном введении крысам Т-2 токсина на уровне ПДК (0,1 мг/кг массы тела) на 20 сутки беременности в стадии нормального развития находилось 89,6%, остальные резорбировались – 14,3 и 10,3% соответственно, не вызывал аномалий в развитии внутренних органов эмбрионов. При изучении костной системы черепа, нижней челюсти и тазового пояса не выявлено оссификации костей и торможение костных закладок скелета, т.е. Т-2 токсин в дозе 0,1 мг/кг массы тела не оказывал тератогенного эффекта.

При сочетанном введении внутрь крысам дециса и Т-2 токсина в стадии нормального развития находилось 81,4% потомства, остальные 18,6% резорбировались. У контрольных беременных крыс развивающееся потомство составило 86,2%, резорбированных 13,8%.

В опытной группе отмечается закономерное отставание в формировании хвостовых позвонков, фаланг и пястных костей. Кроме того, у плодов крыс опытной группы более слабые окрашиваются кости черепа, особенно затылочная, теменная и височные, что провоцирует широкое теменное «отверстие». В отдельных случаях выше перечисленные кости черепа практически вовсе не окрашивались. У большинства плодов опытной группы неокрашенными остаются последние крестцовые позвонки, кости плюсны, последние кости грудины. Пястных костей выявлялось по одной на каждой лапке, слабо окрашивались отростки последних реберных позвонков и поясничные позвонки.

Таким образом, у 20-дневных плодов крыс отмечается задержка окостенения костей черепа, осевого скелета и конечностей в результате сочетанного введения дециса и Т-2 токсина на уровне предельно-допустимой концентрации.

Ввиду того, что отклонения в развитии могут проявляться также в более поздний период, часть беременных самок оставляли до наступления естественных родов с последующим наблюдением за развитием потомства в постнатальном периоде вплоть до наступления физиологической зрелости. Для оценки физиологического развития у крысят регистрировали сроки открытия глаз, отлипание ушей, развития шерстного покрова, открытие половой щели и др.

У крыс получавших децис и Т-2 токсин на уровне ПДК в течение всего срока беременности и оставленных до родов, беременность завершалась через 23-24 сут, как и в контрольной группе. Однако количество новорожденных крысят в опытных группах было ниже на 3,6% по сравнению с контрольной. Количество живых крысят в опытной группе составило 84,4%, а в контрольной – 87,9%; мертвых крысят в опытной группе 15,6%, а в контрольной 12,1%. Средняя масса крысят в опытной группе 3,3 г, а в контроле 3,5 г.

После рождения крысята физиологически развивались нормально. В опытных и контрольных группах аномалии развития отсутствовали (общие и функциональные). Наблюдение за крысятами с постнатального периода вели до наступления физиологической зрелости. Исследования показали, что введение беременным крысам Т-2 токсина и дециса на уровне ПДК в течение 20 дней беременности заметно не влияло на массу крысят: в опытных группах через 3 месяца – 210-215 г, в контрольной группе – 216 г.

Таким образом, установлено усиление токсического действия Т-2 токсина и дециса при сочетанном поступлении их в организм лабораторных животных. Установлена резорбция эмбрионов в предимплантационный период. Постимплантационный период не влиял на смертность эмбрионов.

Т-2 токсин и децис при сочетанном введении также обладает тератогенным действием.

ТОКСИНЫ МИКРОМИЦЕТОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ

Зачиняев Я.В., Сергиенко С.С.

Санкт-Петербургский государственный университет сервиса и
экономики,
Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства
Санкт-Петербург

В нашей статье рассмотрены токсины грибов и их действие на организм лошадей. Способность образовывать токсины присуща определенным группам макроскопических (макромицетов) и микроскопических грибов (микромидетов).

Клинические токсикологические синдромы, связанные с попаданием с пищей больших количеств микотоксинов, хорошо описаны у животных в широком диапазоне: от внезапной гибели до замедления роста и снижения репродуктивной функции.

Большинство грибных токсинов (микотоксинов) относят к вторичным метаболитам, биосинтез которых происходит с участием ферментов — первичных метаболитов. Следовательно, микотоксины не являются продуктами матричного синтеза в клетках грибов.

При употреблении лошадьми кормов, загрязненных такими ядами, или в случаях заметной обсемененности продуктов токсигенными грибами, возможны серьезные отравления животных (микотоксикозы) вплоть до их гибели.

Эксперты FAO (Food Agriculture Organization) считают, что 25% урожая зерновых культур ежегодно загрязняются микотоксинами.

Это означает, что токсигенные грибы наносят огромный вред сельскому хозяйству, равно как и здоровью людей и животных в различных регионах земного шара.

Ветеринарные микологи знают, что, наряду с токсигенными грибами, в природе существуют патогенные и условно-патогенные грибы, также способные образовывать токсичные метаболиты, которые могут быть ферментной природы, то есть первичными метаболитами, или небелковыми структурами — вторичными метаболитами. В качестве примера можно назвать *Aspergillus fumigatus*.

Чрезвычайно распространен и опасен желтый аспергилл *Aspergillus flavus* и различные виды фузариев — *Fusarium sporotrichoides*.

В 1981—1983 гг. во Франции было отмечено несколько случаев гибели лошадей по причине содержания фузариотоксинов в зерне и кормах (J. Le Bars).

В настоящее время в качестве возбудителей аспергиллеза называют 23 вида аспергиллов, из которых наиболее часто описывают: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. ustus*, *A. versicolor* и др. Из них чаще других упоминают *Aspergillus fumigatus*.

Можно заключить, что генетическое родство видов рода *Aspergillus* предопределяет сходство их физиологических проявлений при индукции патологических процессов *in vivo*.

С определенной очевидностью это можно экстраполировать и на другие роды микромицетов, способных в определенных условиях инициировать микотические заболевания, например, *Fusarium*, *Penicillium* и др.

Необходимо также учитывать и такие возможности микромицетов-патогенов, как адаптация к новым условиям существования в инфицированном макроорганизме (лошади), а также их диапазон естественной и/или индуцированной мутационной изменчивости.

Важность определения экологически опасных микотоксинов в различных продуктах и зерновом субстрате давно признана во многих странах мира. Учеными разработаны соответствующие аналитические методы и определены предельно допустимые уровни содержания микотоксинов в продовольственном сырье, кормах для сельскохозяйственных животных и пищевых продуктах для человека.

Интересно отметить, что один и тот же микромицет может образовывать сразу несколько микотоксинов, например, некоторые аспергиллы, фузариум, пенициллы.

В патогенезе глубоких микозов, протекающих хронически, отмечают процессы отмирания клеток пораженного органа животного или ткани.

Таким образом, токсические вторичные и первичные метаболиты вносят «свой вклад» в патогенез микотических процессов. Поэтому, в ряде случаев с учетом видовой принадлежности патогена, необходимо проведение детального исследования токсигенности возбудителя-изолята от инфицированного животного.

С учетом окружающей природной среды обитания токсигенных микромицетов следует обращать особое внимание на возможность их присутствия в конюшнях и тренотделениях конных заводов, а также в жилых и служебных помещениях.

Ветеринарным врачам-микологам и лаборантам необходимо знать токсигенные грибы, способные вызывать микотоксикозы, а также те микромицеты, которые являются патогенами и условными патогенами, продуцирующими токсины наряду с другими факторами агрессии и патогенности.

О применении хищных грибов-гифомицетов против гельминтозов животных сообщается в работе.

Гельминтозы причиняют большой ущерб коневодству, задерживая рост молодняка, снижая продуктивность взрослых животных.

Учеными установлена активность хищных грибов по отношению к 12 родам зоогельминтов. Использование препаративных форм на основе конидий путем скармливания их животным показало эффективность в снижении численности личинок в фекалиях животных и на пастбище

на 46–89%. Однако, конидии являются малоустойчивыми структурами, как при прохождении пищеварительного тракта животных, так и при попадании в почву. В этой связи наиболее целесообразно применение хищных грибов, обладающих способностью продуцировать на питательных средах большое количество хламидоспор. Таким свойством обладает нематофаговый гриб *Arthrobotrys flagrans*, выделенный из почвы в 1989 году.

С аналогичным грибом *Duddingtonia flagrans* активно проводятся исследования в Дании, США, Бразилии и других странах.

Установлено, что хламидоспоры хорошо проходят через пищеварительный тракт животных. Гриб эффективно уничтожает личинок в фекалиях и проявляет антибиотический эффект по отношению к плесневым грибам, содержащихся в кормах животных.

Поскольку почва является естественной средой обитания гриба, то его действие может быть долговременным, что является экономически выгодным и экологически целесообразным, как против гельминтозов сельскохозяйственных, так и домашних животных.

Об экологических особенностях хищных грибов сообщается в работе.

Хищные грибы-гифомицеты составляют особую экологическую группу, роль которой в природе еще до конца не оценена.

На примере рода *Arthrobotrys* установлено, что хищные грибы существуют в почве в виде хламидоспор, которые обеспечивают им устойчивость к фунгистазису, недоступность для некоторых представителей почвенной фауны. Хламидоспоры формировались на основе, как клеток конидий, так и мицелия, помещаемых исследователями в почву. Появление личинок нематод стимулирует прорастание хламидоспор и формирование ловчих органов. После актов хищничества образуются новые генерации хламидоспор. Выявлена периодичность в формировании ловушек в почве, а также разница между штаммами по их количеству. Максимальное число ловушек у всех исследованных штаммов формировалось на 14-ые сутки. В это же время продолжается формирование хламидоспор. К 30-ым суткам наивысшие показатели по числу ловушек и хламидоспор наблюдались у штаммов ВКМФ-3062D и ВКМФ-2461D. У штаммов, неактивных в почве, наблюдался быстрый лизис конидии и мицелия.

Полученные результаты свидетельствуют о приспособленности популяций хищных грибов к существованию в почве, критерием которой является факт их стабилизации в течение месяца на ненулевом уровне численности. Позднее в производственных испытаниях было показано, что препарат на основе нематофаговых грибов может эффективно защищать от галловых нематод.

Учитывая особенности существования хищных грибов в экологической нише, связанной трофически с нематодами, необходимо при отборе эффективных штаммов проводить их окончательную оценку в условиях почвы.

Для получения биопрепарата с целью длительного хранения в качестве продуцента может быть использован нематофаговый гриб *Arthrobotrys fragrans*, выделенный в 1989 году из теплицы. Этот гриб образует в культуре большое число хламидоспор. Опыты показали, что этот хищный гриб может быть эффективным, как в борьбе с фитогельминтами, так и с гельминтозами животных.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В КАЧЕСТВЕ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИДОТОВ ПРИ Т-2 ТОКСИКОЗЕ

*Иванов А.В., Тертичная М.В., Гильмутдинов Р.Я., Тремасов М.Я.
ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной
безопасности животных»
Казань*

Особую опасность для человека и животных, в связи с широким распространением в природе, представляют токсины микроскопических грибов из рода *Fusarium* и, в первую очередь, Т-2 токсин (Тутельян В.А., Кравченко Л.В., 1985 и др.). Сегодня вопросы этического, разумного и экономного использования животных в исследованиях в области медицины, биологии и ветеринарии привлекают все большее внимание специалистов и общественности. Тем более что они вполне решаемы, поскольку существуют достаточные возможности не только для сведения количества подопытных животных к минимуму, но и к полной или частичной их замене. На практике подобное можно осуществить благодаря широкому внедрению альтернативных биологических моделей, в том числе культуральных.

Целью данной работы явилось изучение возможности применения клеточных культур (КК) для предварительного скрининга веществ с потенциально антидотными свойствами при Т-2 токсикозе.

В работе использовались линия перевиваемых культур клеток MDBK (почка бычка) из коллекции ФГУ ФЦ ТРБ (г. Казань). Влияние токсинов на клетки определяли с учетом: коэффициента жизнеспособности (КЖ); индекса пролиферации (ИП); индекса цитотоксичности (ИЦ) (Дьяконов Л.П. и др., 2000); плотности клеточной популяции (ПП); цитотоксического индекса (ЦТИ) (Червонская Г.П. и др., 1988) и предложенного нами (Тертичная М.В., 2003) цитотоксического индекса.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клеточной суспензии определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) (Гончаренко М.С., Латина А.М., 1985) спектрофотометрически.

В качестве веществ с потенциально антидотными свойствами изучались ксимедон и селенит натрия. В качестве контроля вносили адекватное количество 960 этилового спирта, использовавшегося нами в качестве растворителя.

Результаты исследований приведены в табл. 1.

Табл. 1. Влияние натрия селенита и ксимедона на токсичность Т-2 токсина для клеточной линии MDBK

Внесенные вещества	Коэффициент жизнеспособности	Индекс пролиферации	Индекс цитотоксичности	Цитотоксический индекс	Предлагаемый цитотоксический индекс
Контроль	99,1±0,4	4,0±0,1	0,25±0,01		
Т-2 токсин	96,3±1,2*	2,1±0,1*	0,50±0,03*	-3,6±1,9	0,50±0,03
Т-2 токсин + натрия селенит	96,9±0,6*	3,3±0,1*	0,31±0,002*	-2,3±0,9	0,81±0,02
Т-2 токсин + ксимедон	97,1±0,8*	2,7±0,1*	0,38±0,003*	-2,2±1,1	0,65±0,02

Примечание: * - уровни достоверности различия с контролем $p < 0,05$

Из таблицы 1 можно констатировать защитное действие ксимедона на клетки, хотя и недостаточное для полного блокирования цитотоксического действия Т-2 токсина. При сочетанном внесении Т-2 токсина и натрия селенита в суспензию клеток защитное влияние последнего по сравнению с ксимедоном было более выражено. Однако, так же как и в предыдущем случае, эти показатели не достигали контрольных значений.

Общеизвестно, что мишенями для Т-2 токсина на организменном уровне являются иммунокомпетентные органы, такие как селезенка, вилочковая железа, лимфоидная ткань, а у птиц – фабрициева сумка (Котик А.Н., Труфанова В.А., 1977; Кравченко Л.В. и др., 1983. Хотя ксимедон преимущественно действует на организменном уровне, в наших исследованиях показано, проявление им защитного действия на перевиваемые культуры клеток при внесении Т-2 токсина.

Табл. 2. Содержание МДА в клеточной суспензии при внесении Т-2 токсина в дозе IC50 и на фоне введения ксимедона и натрия селенита

Вносимое вещество	МДА, мкМ/10 ⁶ клеток
Контроль	0,100±0,006
Т-2 токсин	0,602±0,024*
Т-2 токсин + ксимедон	0,399±0,015*
Т-2 токсин + натрия селенит	0,259±0,009*

Примечание: * - уровни достоверности различия с контролем $p < 0,001$

Как видно из таблицы 2, при внесении ксимедона в клеточную суспензию уровень перекисного окисления липидов был ниже на 33% по сравнению с культурой, в которую вносился только Т-2 токсин. Видимо, именно это способствует увеличению выживаемости клеток в культуре. Натрия селенит, как известно, в основе своего влияния имеет ярко выраженное антиоксидантное действие. Защитный эффект антиоксидантов, в частности селена, связан с ингибированием процесса окисления липидов, индуцированного Т-2 токсином (Rizzo A. et al., 1994). В наших исследованиях натрия селенит *in vivo* в дозе 0,12 – 0,13 мг/кг увеличивал выживаемость на 20%, а в эксперименте *in vitro* в дозе IC50 – на 31%. При этом уровень ПОЛ в клеточной суспензии был ниже на 57% по сравнению с культурой, в которую вносился только Т-2 токсин.

Таким образом, мы считаем, что клеточная линия MDBK, применяемая нами при исследовании цитотоксичности Т-2 токсина на фоне воздействия ксимедона и натрия селенита, может быть использована для предварительного скрининга и других препаратов, обладающих потенциальными лечебно-профилактическими свойствами при Т-2 токсикозе.

ПРИМЕНЕНИЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МИКОТОКСИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Иванов А.В., Семенов Э.И., Тремасов М.Я.
*ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной
безопасности»*
Казань

Микотоксикозы – заболевания, вызванные потреблением продуктов или кормов контаминированных токсическими метаболитами микроскопических грибов. Микроскопические грибы распространены повсеместно и загрязнение ими кормов, сельскохозяйственной продукции возможно на любом этапе производства, поэтому микотоксины считаются неизбежными контаминантами продуктов питания и кормов и являются общемировой проблемой.

Микотоксины отличаются высокой токсичностью, а многие из них обладают мутагенными, тератогенными, канцерогенными и иммуносупрессивными свойствами, контаминируя продукты животноводства (молоко, мясо и яйца) и растениеводства, могут представлять опасность и для здоровья человека. Во многих случаях микотоксины в корме присутствуют в комбинации. Имеются данные об увеличении токсического действия при одновременном поступлении в организм нескольких микотоксинов.

В связи с вышеизложенным, профилактика микотоксикозов, получение высококачественных продуктов питания является актуальной проблемой. В последнее годы наиболее эффективными при профилактике микотоксикозов является применение сорбентов.

В этом отношении интерес вызывает применение доступного и дешевого минерального сырья. Нами изучена возможность применения бентонитов Тарн-Варского месторождения Республики Татарстан и углеродного энтеросорбента «Зоокарб» для профилактики микотоксикозов. Ранее нами была проведена оценка сорбционных свойств бентонита и зоокарба *in vitro*, которая показала выраженные сорбционные способности к Т-2 токсину и афлатоксину В1. Моделирование подострых микотоксикозов на белых крысах, показало, что добавление бентонита и зоокарба в их рацион, предотвращало гибель подопытных животных, нормализовывало гематологические и биохимические показатели. Далее провели изучение профилактической эффективности при моделировании хронического смешанного Т-2 и афлатоксикоза на овцах.

Для этого было сформировано группы овец: первая группа животных получала с кормом Т-2 токсин (1/20 ЛД50); вторая группа – Т-2 токсин (1/20 ЛД50) и дополнительно афлатоксин В1 (1/50 ЛД50); третья группа получала Т-2 токсин (1/20 ЛД50), афлатоксин В1 (1/50 ЛД50) и бентонит Тарн-Варского месторождения в количестве 2% от рациона; четвертая группа получала Т-2 токсин (1/20 ЛД50), афлатоксин В1 (1/50 ЛД50) и сорбент микосорб в количестве 0,2% от рациона; пятая группа получала Т-2 токсин (1/20 ЛД50), афлатоксин В1 (1/50 ЛД50) и зоокарб в дозе 0,2% от рациона.

В качестве критериев интоксикации служили клиническая картина, изменение количества эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, содержание общего белка, глюкозы, активность холинэстеразы, щелочной фосфатазы, перекисного окисления липидов.

У овец первой и второй группы животных регистрировали закономерное снижение гематологических параметров. Так, в первой группе на 30 сутки отмечали уменьшение количества эритроцитов на 10,8% соответственно, во второй группе – на 13,0% соответственно.

Уменьшение количества лейкоцитов в те же сроки в первой группе было 19,7 и во второй группе – 27,6% соответственно.

В то же время, у животных профилактированных групп наблюдали менее выраженное уменьшение исследуемых показателей. Так, в третьей группе количество эритроцитов на 30 сутки опыта снижалось всего лишь на 4,6%, лейкоцитов на 5%, гемоглобина 4,8%.

В четвертой группе количество эритроцитов 30 сутки уменьшалось на 3,5%; гемоглобина на 7,3%; лейкоцитов на 9,4%.

В пятой группе снижение количества эритроцитов составило к 30 суткам – на 2,0%, лейкоцитов 5%.

Полученные данные свидетельствуют об усилении токсического действия микотоксинов при их совместном поступлении и о выражен-

ном защитном действии сорбентов при отравлении микотоксинами, что наиболее заметно у бентонита и зоокарба.

Содержание общего белка и глюкозы при действии микотоксинов также претерпевало изменения. Так в первой и второй группах животных происходило уменьшение содержания общего белка в сыворотке крови на 30 сутки – на 14,2 и 16,8% соответственно.

В то же время уменьшение общего белка в третьей группе составило 7,0%, в четвертой группе – 5,2% и в пятой группе – 5,7%.

Происходило снижение количества глюкозы в крови овец, которое в первой группе составило 15,2%; во второй группе – 18,3%; третьей группе – 28,0%; в четвертой группе – 9,3% и в пятой группе – 10,4%.

В наших исследованиях отмечено резкое снижение активности холинэстеразы в крови подопытных на всем протяжении опыта. Так, уменьшение активности холинэстеразы овец получавших Т-2 токсин к 30 суткам составило 33,2%; у овец получавших оба токсина на 10 сутки отмечалось повышение активности холинэстеразы на 10,5% и, затем резкое уменьшение на 20 и 30 сутки – на 18,5 и 47,4% соответственно. В профилактированных группах регистрировали менее выраженное уменьшение активности холинэстеразы – к 30 суткам оно было следующим: в третьей группе – 21%; в четвертой – 24% и в пятой – 11,6%. Эти данные подтверждают гепатотоксическое действие микотоксинов, усиливающееся при совместном поступлении, так и выраженное профилактическое действие сорбентов.

В наших исследованиях отмечали увеличение активности щелочной фосфатазы сыворотки крови овец во всех группах животных, наибольшее увеличение регистрировали в непрофилактированных группах и при совместном поступлении токсинов, так, к 30 суткам в первой группе овец увеличение активности щелочной фосфатазы составило 11,0%; во второй группе 18%. В профилактированных группах также регистрировали незначительное увеличение активности щелочной фосфатазы, но оно было статистически недостоверно.

В доступной литературе об усилении процессов перекисного окисления липидов при воздействии микотоксинов сообщают различные авторы. Нашими исследованиями также подтверждено активация ПОЛ при воздействии микотоксинов, особенно при их сочетанном воздействии, причем процессы усиления ПОЛ происходили при воздействии малых доз микотоксинов. Так, в крови овец получавших Т-2 токсин увеличение МДА на 30 сутки было на 9,0%, при одновременном поступлении Т-2 и афлатоксина – на 13% соответственно. При этом у овец получавших с кормом оба токсина и сорбенты, отмечали меньшую активацию ПОЛ, кроме того, при применении бентонита отмечали достоверное снижение содержания МДА, применение микосорба оказывало меньшее защитное действие, чем применение бентонита и зоокарба.

Полученные данные свидетельствуют о профилактическом действии бентонита и зоокарба при микотоксикозах животных и о перспективности использования местного дешевого и доступного минерального сырья.

ВЛИЯНИЕ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА В1 НА СВОЙСТВА ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Иванченко О.Б.¹, Мартынова Е.А.², Пичугина Л.В.³, Пузанова О.П.⁴

1 – ГОУ ВПО СПГУ низкотемпературных и пищевых технологий

Санкт-Петербург

2 – ГУ НИИ питания РАМН

Москва;

3 – ГНЦ Институт Иммунологии

Москва

4 – ВолГМУ

Волгоград

Лактобактерии в настоящее время активно изучаются вследствие их пробиотических свойств. Пробиотики – это микроорганизмы, которые, будучи введенными в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека или животных, могут целенаправленно изменять микрофлору кишечника и регулировать локальный иммунный статус макроорганизма. К пробиотикам относятся бактерии рода *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Enterobacteria*. Пробиотики поддерживают интеграцию слизистого слоя и эпителия ЖКТ, регулируют метаболизм витаминов, метаболизируют остаточные количества макронутриентов в толстой кишке, способствуют адсорбции питательных веществ.

Действие пробиотиков может быть прямым или опосредованным через изменение микробного биоценоза или локальной иммунной системы ЖКТ. В толстой кишке пробиотики расщепляют субстраты, обычно недоступные ферментам тонкой кишки. Прием пробиотиков снижает частоту кишечных заболеваний у человека. По литературным данным лактобактерии связывают и нейтрализуют действие некоторых микотоксинов, в частности, афлатоксина В1. При попадании микотоксинов с пищей в ЖКТ лактобактерии могут вступать во взаимодействие с токсинами, что теоретически может изменять свойства обоих компонентов и влиять на окружающие клетки эпителия и иммунной системы.

Целью данной работы было исследование влияния микотоксина фумонизина В1 на рост и клеточный цикл *Lactobacillus acidophilum*, а также их взаимодействие с другими компонентами экосистемы желудочно-кишечного тракта, в частности, с клетками иммунной системы.

Фумонизин В1 ($C_{34}H_{59}NO_{15}$, М 721) продуцируется микроскопическими грибами рода *Fusarium moniliforme*, *prolififeratum*, *anthophilum*, *dlamini*, *pariforme*, *nygamae* и *verticillioides*. Основной механизм действия фумонизина В1 связан с его способностью ингибировать церамидсинтазу – фермент синтеза церамида *de novo*, что приводит к накоплению в клетке сфинганина и сфингозина, обладающих выраженной биологической активностью. Сфингозин может метилировать ДНК. По нашим и литературным данным фумонизин В1 обладает ДНК-пов-

реждающей способностью в клетках прокариот. Для клеток *E. coli* наибольший ДНК-повреждающий эффект под действием фузонизина В1 зарегистрирован на штаммах *uvr A*-, у которых дефектна эксцизионная репарация. Максимальный эффект выявлен при концентрации фузонизина 10^{-5} М.

На первоначальном этапе данной работы мы оценивали влияние фузонизина на рост и деление клеток. Для этого культивировали лактобактерии в присутствии 10^{-3} – 10^{-6} М фузонизина В1. Контролем служили интактные клетки *Lactobacillus acidophilum*. Через 5 часов инкубации лактобактерии центрифугировали, надосадочную жидкость сливали, клетки ресуспензировали в 5 мл новой питательной среды Rogozy и проводили титрование культур (Таблица 1). В контроле рост клеток лактобактерий наблюдался до разведения 10^8 раз, в присутствии фузонизина рост наблюдается до разведения 10^7 раз включительно. В вариантах опыта с фузонизином в концентрациях 10^{-3} и 10^{-5} М наблюдается рост до разведения в 10^5 раз включительно. В вариантах опыта с фузонизином в концентрациях 10^{-4} или 10^{-6} М наблюдается рост культур до разведения в 10^6 раз включительно. Исходя из полученных данных, фузонизин в концентрациях 10^{-3} и 10^{-5} М проявил токсическое действие на клетках *Lactobacillus acidophilum*.

Так как фузонизин, поступая в организм, подвергается воздействию ряда ферментных систем, были проведены дополнительные опыты с метаболической активацией (добавлением монооксигеназ клеток печени крыс) для моделирования процесса биотрансформации фузонизина в организме млекопитающих. В большинстве случаев процесс превращения химических соединений расценивается как фактор детоксикации. Однако иногда исходные вещества метаболизируются с образованием реакционно способных структур, которые обладают выраженными токсическими и мутагенными свойствами. Метаболическая активация *in vitro* микросомами печени крыс не изменяла биологическую активность микотоксина фузонизина В1 в отношении клеток *Lactobacterium acidophilum*.

Табл. 1. Оценка токсичности фузонизина на клетках лактобактерий.

[FB1] М	Титры разведения культур лактобактерий						
	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7
10^{-3}	+	+	+	+	+	–	–
10^{-4}	+	+	+	+	+	+	–
10^{-5}	+	+	+	+	+	–	–
10^{-6}	+	+	+	+	+	+	–
Контроль	+	+	+	+	+	+	+

(+) – рост наблюдается, (–) – рост отсутствует.

Следующим этапом работы была оценка влияния фумонизина В1 на клеточный цикл и пролиферацию лактобактерий. Для этого культуры клеток *Lactobacillus acidophilus*, обработанных фумонизином В1 в различных концентрациях (см. выше), анализировали на проточном цитометре по программе оценки клеточного цикла при окраске пропидиумом иодидом (Рис.1).

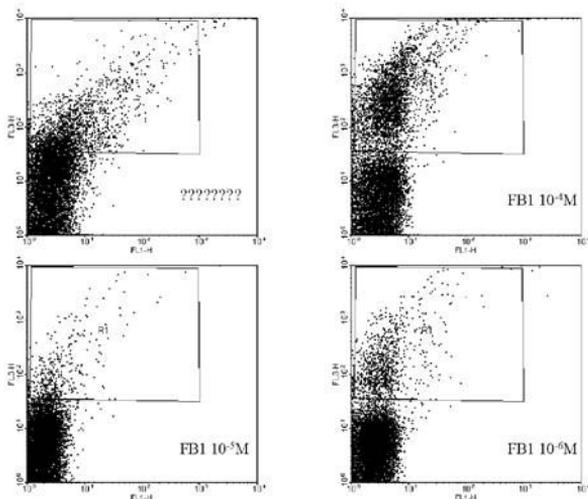


Рис. 1. Цитометрия клеток *Lactobacillus acidophilus*, культивировавшихся в присутствии фумонизина В1.

Выделенный гейт R1 соответствует делящимся клеткам. Фумонизин в концентрации 10^{-5} М оказал выраженное ингибирующее влияние на деление клеток, тогда как концентрация фумонизина 10^{-6} М была значительно менее токсична. Однако максимальная в данном эксперименте концентрация фумонизина В1 [10^{-4} М] оказала стимулирующее влияние на деление клеток лактобактерий (правый верхний квадрант).

В данной части нашей работы было показано выраженное влияние фумонизина В1 на деление клеток лактобактерий. Одновременно установлено, что фумонизин В1 в концентрации 10^{-5} М обуславливал гибель более 30% клеток в культуре, вероятно вследствие аутолиза.

Аутолитическая система лактобактерий включает в себя пептидогликангидролазы и другие ферменты, активность которых зависит от конкретной линии бактерий. Процессы аутолиза лактобактерий также связывают с активацией аргининдезаминазной активности, что снижает синтез полиамидов, а также с активацией нейтральной сфингомиелитазы и распадом сфингомиелина плазматической мембраны, что приводит к накоплению церамида — вторичного мессенджера апоптоза.

Фумонизин в концентрации 10^{-5} М приводит к гибели части клеток и снижению пролиферативного потенциала культуры. Более высокая концентрация фумонизина, предположительно, также обуславливает гибель клеток, но стимулирует пролиферацию выживших клеток и скорость их деления. Это подтверждается исследованиями по культивированию лактобактерий, отмытых от фумонизина. Клетки, которые предварительно культивировались в присутствии 10^{-4} М фумонизина В1, давали прирост клеточной массы на порядок выше, чем при концентрации фумонизина 10^{-5} М, и существенно выше, чем в контрольной культуре.

Следующим этапом работы было исследование лактобактерий, ранее культивированных с фумонизином, в модельной системе *in vivo* на мышах самцах линии DBA. Лактобактерии, отмытые от микотоксина, переводили в полную среду и инкубировали в течение 18 часов, отмывали и вводили мышам однократно *per os* в дозе 10^{14} . Через три недели исследовали активность иммунной системы животных. Определяли абсолютное и относительное число CD3 лимфоцитов и В-лимфоцитов в тонком и толстом кишечнике, в аппендиксе и селезенке на единицу веса органа. Показано, что лактобактерии, контактировавшие с фумонизином в концентрации 10^{-4} М, оказывали выраженное негативное влияние на общее число лимфоцитов и процент В-клеток в тонком кишечнике и аппендиксе мышей. При этом был повышен процент апоптоза в клетках кишечника нелимфоидного ряда, а также в гейте лимфоцитов.

Все эффекты лактобактерий, полученные на мышах *in vivo*, носили дозо-зависимый характер. В этой серии экспериментов показано дозо-зависимое снижение фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов и нейтрофилов мышей, получавших лактобактерии, предварительно обработанные фумонизином. Максимальный негативный эффект показан для концентрации фумонизина 10^{-4} М. Наиболее вероятным объяснением на данный момент является постоянная активная пролиферация лактобактерий в кишечнике экспериментальных животных, что оказывает влияние на активацию лимфоцитов и клеток природного иммунитета. По литературным данным лактобактерии могут индуцировать апоптоз в Т-лимфоцитах кишечника. Лактобактерии также оказывают супрессивное влияние на развитие локального воспаления в слизистой ЖКТ путем ингибирования синтеза некоторых провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы и эпителиоцитами.

В данной работе впервые показано негативное влияние лактобактерий, обработанных фумонизином В1, на локальный иммунный ответ желудочно-кишечного тракта. Полученные данные указывают на комплексный характер взаимодействия пробиотиков и микотоксинов в реальном микробиоценозе кишечника, а также на влияние фумонизина на пролиферативный потенциал лактобактерий *in vivo*.

Выводы.

Фумонизин В1 регулирует клеточный цикл и пролиферацию клеток *Lactobacillus acidophilum*, влияет на пролиферативный потенциал лактобактерий в кишечнике животных, что оказывает выраженное негативное действие на локальный иммунный статус желудочно-кишечного тракта.

СОВМЕСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ Т-2 ТОКСИНА И ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА

Кобзистая О.П.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного
Киев, Украина*

В последние годы накоплен большой объем информации относительно контаминации различных пищевых, кормовых и производственных субстратов трихотеценами. При этом основными токсикантами зерновых и продуктов их переработки выступают дезоксиниваленол и Т-2 токсин. Именно эти микотоксины включены в список регламентированных на законодательном уровне.

Главная задача в работе с зараженными кормами — это быстрая идентификация микотоксина. Микробиологические методы индикации микотоксинов, при всех их недостатках, остаются среди наиболее перспективных для быстрого и массового анализа. Особенно ценными для разработки микробиологических методов следует признать индикаторные культуры, проявляющие чувствительность к нескольким микотоксинам, которые сопровождают друг друга в зерновых субстратах. К таким микотоксинам следует отнести Т-2 токсин и дезоксиниваленол, которые, как правило, сопровождают друг друга в образцах зерновых, пораженных *Fusarium graminearum* и некоторыми другими фузариями.

Однако, разработка микробиологических методов возможна только при наличии высокочувствительных и высокоспецифических тест-культур. Целью работы было выявить такие индикаторные культуры, осуществляя их скрининг среди штаммов зеленых водорослей.

Всего было изучено 16 штаммов, относящихся к 2 видам *Chlorella*, а именно *C. vulgaris* и *C. kessleri*. В работу было включено также 7 хлорофильных мутантов *C. vulgaris*.

Антибиотическую активность микотоксинов определяли по зонам задержки роста исследуемых тест-штаммов зеленых водорослей, которые измеряли после инкубации на протяжении 18–24 ч. Для этого использовали стандартный метод бумажных дисков. Исходная концентрация микотоксинов — 10 мкг/диск.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности большинства исследованных штаммов *C. vulgaris* и *C. kessleri* к Т-2 токсину. Исключение составляли штаммы *C. vulgaris* 194 и *C. kessleri* 197, которые оказались резистентными к изучаемой концентрации этого метаболита.

Чрезвычайно высокая чувствительность к Т-2 токсину была свойственна штаммам *C. vulgaris* 189 и 326, а также *C. kessleri* 200, которые образовывали зоны задержки роста 45, 38 и 39 мм, соответственно. В тоже время, только два из изученных штаммов (*C. vulgaris* 189 и *C. kessleri* 201) оказались чувствительными к дезоксиниваленолу. Интересно, что именно штамм *C. vulgaris* 189 оказался чувствительным как к Т-2 токсину, так и к дезоксиниваленолу.

В результате полученных данных, у нас есть все основания рекомендовать штамм *C. vulgaris* 189 для совместной микробиологической индикации Т-2 токсина и дезоксиниваленола.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ И МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНОВКЕ И ЗЕРНОВОЙ МАССЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ

Львова Л.С.¹, Седова И.Б.², Кизленко О.И.¹
ГНУ ВНИИЗ РАСХН
ГУ НИИ питания РАМН
Москва

Зерновая масса является полузамкнутой экологической системой, в которой микроорганизмы играют роль разрушителей и потребителей органических веществ и энергии, запасенных в зерне. Вызываемые микроорганизмами процессы порчи приводят к потерям сухих веществ зерна, ухудшению показателей его качества, безопасности и жизнеспособности. Крайним проявлением процессов порчи является самосогревание зерна. Численность микроорганизмов в хранящемся зерне может достигать сотен миллионов клеток на 1 г; к наиболее активным биоразрушителям зерна относятся микроскопические грибы.

При хранении разные группы и виды микроскопических грибов занимают в зерновой массе определенные экологические ниши в соответствии со своими требованиями к факторам внешней среды.

В массе самосогревающегося зерна, вследствие выделения тепла и метаболической влаги микроорганизмами, создаются зоны с различными температурно-влажностными режимами и условиями аэрации. Эти обстоятельства способствуют строгой локализации различных экологических групп микромицетов, в том числе токсинообразующих микроско-

пических грибов *p. Aspergillus*, *Penicillium* и *Fusarium*. Так, в поверхностном слое с его высокой влажностью и умеренной температурой в зерне развиваются бактерии, грибы *p. Penicillium* и *Fusarium*. По мере перехода в более глубокие слои греющейся зерновой массы, температура достигает 30, 40 и 50°С, влажность постепенно снижается за счет переноса влаги с конвективными потоками воздуха в более охлажденные участки. Здесь наблюдается последовательное развитие *A. candidus*, *A. nidulans*, *A. flavus* и видов *p. Mucor* и *Rhizopus*. В центре очага самосогревания при максимальных температурах (50–55°С) преобладают термотолерантные мукоровые грибы, переплетающие зерно в темную спекшуюся массу.

Наиболее опасными с токсикологической точки зрения являются верхние слои (20–50 см от поверхности), пораженные *A. flavus*. Этот вид присутствует здесь практически в монокультуре, что является непременным условием для синтеза афлатоксинов. По нашим многолетним данным, афлатоксины накапливались в кукурузе лишь тогда, когда численность *A. flavus* составляла не менее 40–60% от общего количества грибов на зерне.

В поверхностном слое возможен также синтез охратоксина А грибами *p. Penicillium* и образование зеараленона *F. graminearum*. При хранении сырой кукурузы в початках в разных частях насыпи были обнаружены афлатоксины В1 и G1 (до 1300 мкг/кг), койевая кислота (до 500 мг/кг, а также незначительные количества охратоксина А и зеараленона (100 и 170 мкг/кг соответственно). В целом, количество и видовой состав микобиоты зерна дает хорошее представление об условиях его предшествующего хранения и потенциальной опасности загрязнения микотоксинами.

В отдельно взятой зерновке хлебных злаков также наблюдается определенная локализация токсигенных грибов и приуроченность образующих ими микотоксинов к определенным анатомическим структурам зерна. В зависимости от своих пищевых потребностей, наличия соответствующих ферментных систем, характера инфекционного процесса, микромицеты могут в разной степени осваивать оболочку зерна, алейроновый слой, зародыш и эндосперм. Подобная разнородность микобиоты анатомических частей зерна наблюдалась нами у пшеницы, риса, ячменя и кукурузы (табл. 1).

Грибы хранения из родов *Aspergillus* и *Penicillium* первоначально развиваются в оболочках, но затем «оккупируют» наиболее биологически полноценные компоненты зерна – зародыш и алейроновый слой, богатые белками, липидами и фосфолипидами. Доминирующими видами в этих анатомических частях являются *A. flavus*, *A. candidus* и *Penicillium spp.* Именно поэтому значительная масса афлатоксина В1 сосредоточена в зародыше кукурузы, концентрации токсина здесь превышают зерно в целом в 8 раз (табл. 2).

Табл. 1. Распределение микроскопических грибов в анатомических частях зерновки кукурузы (тыс. КОЕ/г)

Анатомическая часть зерновки	Общее кол-во грибов	<i>Fusarium moni-liforme</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Penicillium spp.</i>
Исходное зерно	33,6	3,0	4,5	6,0	6,5	0,6	0,1	7,5
Эндосперм	7,2	0,1	0,35	0,05	5,5	0,05	0,1	0,45
Цветоножка	66,5	4,5	33,5	1,0	0	9,0	3,0	15,5
Зародыш	291,0	1,0–11,0	60,0	20,0	75,0	5,0	20,0	100,0
Алейроновый слой и семенные оболочки	175,0	45,0	50,0	10,0	10,0	5,0	0	45,0
Плодовые оболочки	64,5	55,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0	5,0

Табл. 2. Распределение микотоксинов в анатомических частях зерновки кукурузы

Анатомическая часть зерновки	Концентрация фумонизинов, мг/кг		Концентрация фумонизинов, в % от исходного зерна	Концентрация афлатоксина В1	
	В1	В2		мкг/кг	в % от исходного зерна
Исходное зерно	3,07	0,51	100	102,6	100
Мучнистый эндосперм	0,76	0,18	26,2	27,8	27,1
Стекловидный эндосперм	0,14	0	3,9	13,2	12,9
Эндосперм в целом	0,39	0,07	12,8	19,1	18,6
Зародыш	5,00	0,64	157,5	820,0	800,0
Цветоножка (чехлик)	11,92	4,86	468,7	86,4	84,2
Оболочки	18,09	3,16	593,6	130,7	127,4

Эндофитные формы *F. moniliforme*, поражающие кукурузу в поле при созревании, развиваются преимущественно в оболочках зерна и алейроновом слое. Зародыш они колонизируют либо при хранении сырого зерна, либо при развитии фузариоза колоса в период созревания. Преобладающая часть фумонизинов В1 и В2 накапливается *F. moniliforme* именно в оболочках и алейроновом слое.

Эндосперм хорошо защищен от внешней инфекции грибов и имеет для них более низкую пищевую ценность, поэтому он слабее других частей зерна поражается грибами и загрязняется микотоксинами. Концентрации фумонизинов и афлатоксина В1 в эндосперме были значительно ниже, чем в исходном зерне (12,8 и 18,6% соответственно), хотя по мере углубления процессов порчи эти величины могут возрасти.

В целом, эндосперм зерна, непосредственно из которого вырабатываются крупы и мука продовольственного назначения, является с микологической и токсикологической точки зрения наиболее безопасной частью зерна.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА В1

Мартынова Е.А.
ГУ НИИ питания РАМН
Москва

Фумонизин В1 (C₃₄H₅₉NO₁₅, M 721), входит в группу микотоксинов, структурно относящуюся к сфинголипидам и характеризующуюся наличием 19-20С аминополигидрокси-карбоксильных цепей [Merrill et al., 2001]. Фумонизины продуцируются микроскопическими грибами рода *Fusarium moniliforme*, *prolifera*, *anthophilum*, *damini*, *pariforme*, *pygamae* и *verticillioides*. Фумонизин В1 является канцерогеном для животных и человека, оказывает токсическое действие на организм высших эукариот, клетки низших эукариот и прокариот. Нами было впервые показано, что однократное воздействие фумонизина В1 приводит к его накоплению в органах иммунной системы в количествах, достаточных для изменения иммунного ответа, нарушения рецепторного аппарата лимфоцитов и сигнальных путей активации и пролиферации клеток иммунной системы. Однократное введение фумонизина В1 оказывает влияние на образование клеток памяти и вторичный иммунный ответ на Т-зависимые антигены. Многократное воздействие фумонизином В1 на организм животных обуславливает развитие вторичного иммунодефицитного состояния, что создает основу для развития онкологических заболеваний, хронической вирусной инфекции, активации оппортунистических инфекций. Известны дру-

гие иммунобиологические эффекты фузонина В1 – снижение массы органов иммунной системы, снижение титров антител, снижение пролиферации лимфоцитов и гепатоцитов.

Основной механизм действия фузонина В1 связан с его способностью ингибировать церамидсинтазу – фермент синтеза церамида de novo. Это приводит к накоплению в клетке предшественников синтеза – сфинганина и сфингозина, обладающих выраженной биологической активностью. Сфингозин способен метиллировать ДНК, он инициирует собственные сигнальные пути. Сфинганин приводит к остановке клеточного цикла в G2 фазе или к апоптозу. Церамид (N-Acyl-Sphingosine) – это ключевая молекула синтеза комплексных сфинголипидов, ответственных за многочисленные структурные и сигнальные функции в клетке. Разные пулы церамидов (от C6 до C18) специфичны для различных компартментов клетки. Церамид, образованный в результате активации сфингомиелиназы и гидролиза сфингомиелина плазматической мембраны, является вторичным мессенджером сигнальных путей апоптоза, в частности, сигналов от рецепторов семейства фактора некроза опухолей (TNF) и других рецепторов апоптоза, ионизирующей радиации и др. Для TNF-а показано участие, как минимум, двух пулов церамида в проведении сигнала апоптоза. Снижение уровня церамида в клетке влияет на синтез комплексных сфинголипидов, необходимых для поддержания структурной организации плазматической мембраны и мембран органелл, они участвуют в формировании транспортных каналов в клетке. Ганглиозиды выполняют другие многочисленные функции в клетке, выступают в качестве рецепторов ростовых факторов, проводят сигналы выживания в клетку и др. Снижение уровня церамида может приводить к изменению липидного состава клетки, несовместимому с дальнейшей ее активностью.

Однако только при длительном поступлении в клетку значительных доз фузонина В1 развивается именно этот механизм действия микотоксина. Первоначальное воздействие на клетку фузонина В1 связано с другими механизмами – с его способностью активировать нейтральную сфингомиелиназу плазматической мембраны и связываться со специфическими рецепторами на поверхности клеток. При однократном воздействии в низких дозах фузонин В1 может оказывать выраженное токсическое действие без существенного изменения уровня активности церамидсинтазы. В последние годы активно изучаются эффекты фузонина В1 в отношении регуляторов клеточного цикла. Известно, что фузонин изменяет функциональную активность RB протеина, белка p21WAF/KIP1 и многих других белков, непосредственно определяющих фазовые переходы клеточного цикла, что приводит к остановке деления или гибели клетки. Наиболее интересным с точки зрения создания новых противоопухолевых препаратов является использование фузонина В1 как специфического ингибитора клеточного цикла в опухолевых клетках.

Настоящее исследование посвящено изучению влияния фумонизина В1 на молекулярные механизмы, регулирующие активацию клеток и апоптоз.

Апоптоз (или запрограммированная гибель клеток) — это энерго-зависимый, генно-регулируемый процесс, соответствующий общему плану развития организма, морфологически характеризуемый конденсацией и вакуолизацией цитоплазмы, реорганизацией цитоскелета, потерей контакта с экстраклеточным матриксом, вакуолизацией ядра, конденсацией хроматина, фрагментацией ДНК, фрагментацией цитоплазмы и ядра, и образованием апоптозных телец — частиц клетки, ограниченных плазматической мембраной. При реализации гибели клетки сигналы от рецепторов на плазматической мембране передают информацию на гены, ассоциированные с апоптозом, что приводит к синтезу и активации основных эффекторных протеаз апоптоза.

В настоящее время известно несколько типов апоптоза, принципиально различающихся местом инициирования апоптозного сигнала. Это рецепторный тип апоптоза, митохондриальный и стрессозависимый, вызванный перемещением шаперонов в эндоплазматическом ретикулуме. Мы провели исследование по влиянию фумонизина В1 на все известные типы апоптоза и показали, что он способен усиливать и инициировать различные сигналы апоптоза.

Особенностью активации рецепторов апоптоза является образование тримеров и их суперагрегация в виде шапочки, или кэппинга, что является церамид — зависимым событием. Наличие интактных сфинголипид-обогащенных мембранных микродоменов (рафтов или кавелол) необходимо для кэппинга, их повреждение предотвращает апоптоз. При активации рецепторов апоптоза, помимо основного сигнального пути, также активируется сфингомиелиназа плазматической мембраны и образуется церамид. В течение нескольких минут после активации рецепторов TNF в кислых компартментах клетки накапливается церамид, синтезированный *de novo*, который проводит TNF-зависимый сигнал на фактор транскрипции NF- κ B. При этом синтезируются ганглиозиды и другие комплексные сфинголипиды. Мы показали, что связывание рецепторов TNF-R55 и -R75 по-разному активирует апоптоз, этот процесс сопровождается выраженным изменением липидов плазматической мембраны. Одновременное добавление к клеткам антител к рецепторам TNF и фумонизина В1 приводит к быстрой гибели клеток. Известно, что фумонизин В1 регулирует проведение сигналов TNF на фактор транскрипции NF- κ B, и, таким образом, взаимодействие сигналов апоптоза и выживания. В наших экспериментах фумонизин В1 потенцировал апоптозное действие антител к рецептору CD95/Fas/Apo-1 в нормальных и опухолевых клетках.

Использование фумонизина для индукции апоптоза в опухолевых клетках позволяет амплифицировать сигналы апоптоза и ингибировать сигналы выживания. Апоптоз, индуцированный противоопухолевыми

препаратами, сопровождается сначала синтезом церамида *de novo*, который инициирует перемещение РКС-дельта из цитоплазмы в митохондрии, что способствует выходу цитохрома с и церамид-зависимой активации каспазы-9. Каспаза-9, в свою очередь, активирует нейтральную сфингомиелиназу плазматической мембраны, что сопровождается накопления второго пула церамида и формированием дополнительного, амплифицирующего сигнала апоптоза. Апоптотное действие фумонизина в этом случае связано с дополнительной активацией сфингомиелиназы, а не с ингибированием церамидсинтазы.

Одним из механизмов блокирования апоптоза в опухолевых клетках является повышение активности церамидкиназы и сфингозинкиназы, что приводит к быстрому образованию церамид-1-фосфата (Cer-1-P) и сфингозин-1-фосфата (Sph-1-P), которые инициирует сигнальные пути, конкурентные церамид-зависимым сигналам. Конверсия церамида до Sph-1-P характерна для опухолевых клеток, что позволяет им прерывать апоптотные сигналы на уровне сфингомиелинового цикла. Sph-1-P-зависимый сигнальный путь прерывает активацию каспазы-3, ингибирует транслокацию цитохрома с и Smac из митохондрий. Этот эффект показан для клеток HL-60 и Jurkat при TNF- и Fas-зависимом апоптозе. Нашими исследованием показано, что фумонизин В1 дозозависимо инициирует апоптоз в этих клеточных линиях, что связано с выраженным митохондриальным эффектом фумонизина. Апоптотный эффект фумонизина В1 может регулироваться ингибиторами митохондриального окисления, а также регуляторами фосфоинозитольного сигнального пути, что указывает на взаимодействие сигнальных путей в лимфоцитах, инициированных фумонизинном, с сигналами ростовых факторов и путями митохондриального окисления.

Фумонизин В1 вызывает гибель опухолевых клеток при условии экспонирования его в определенные фазы клеточного цикла. Наиболее чувствительной к действию фумонизина является G1 фаза клеточного цикла, наименее отвечающей – G0 фаза.

Про-апоптотное действие фумонизина В1 также обусловлено его способностью активировать каспазу-3 – ведущую эффекторную протеазу апоптоза. Каспазы – это цистеиновые аспартат-специфичные протеазы, гидролизующие структурные и функциональные цитоплазматические и ядерные белки. Каспазы имеют активированный цистеин внутри высоко-консервативного активного сайта, включающего пентапептид QACRG. Известно 14 каспаз млекопитающих, пронумерованных согласно последовательности их открытия. Все известные к настоящему времени каспазо-зависимые сигнальные пути взаимодействуют с церамидом. В результате активации каспаз и сфингомиелинового цикла образуются вторичные мессенджеры, регулирующие активность сигнальных путей друг друга. Разобщение сигнальных путей церамида и каспаз может быть одним из факторов устойчивости малигнизированных клеток к апоптозу. Мы показали, что фумонизин В1 регулируют

активность сигнальных каскадов, инициированных каспазами. Каспаза-3 активирует IL-1b, который, в свою очередь, активирует нейтральную сфингомиелиназу плазматической мембраны, инициирует распад сфингомиелина и образование церамида. Далее сигнал передается на JNK1 киназу и фактор транскрипции AT-F2. Церамид, синтезированный *de novo*, является доминантным регулятором в апоптотном каскаде с участием каспазы-1. Этот путь образования церамида регулируется фумонизином В1.

Церамид – зависимые сигнальные пути, каспазо-зависимые сигналы и митохондриальные изменения регулируются с помощью единого рецептор-зависимого механизма, что важно для индукции апоптоза в опухолевых клетках. Между образованием церамида, активацией каспаз и падением митохондриального потенциала существуют определенные временные взаимоотношения. Повышение экспрессии белка Bcl-2 в митохондриях ингибирует церамид-зависимый апоптоз в опухолевых клетках. Показано, что передача сигнала от церамида на митохондрии опосредована экспрессией про-апоптотного белка Вах. Церамид повышает синтез Вах, а также повышает экспрессию белка р53, который регулирует соотношение белков Bcl-2/Вах. Показано, что церамид непосредственно регулирует образование каналов в мембране митохондрий, стимулирует образование радикалов кислорода, влияет на окислительный стресс. Мы показали, что ингибиторы митохондриального дыхания взаимодействуют с церамид-зависимыми сигнальными путями и регулируют апоптоз в опухолевых клетках. Фумонизин В1 оказывает влияние на активность сфингомиелиназы митохондрий, сфингомиелиновый цикл и нарастание пула митохондриального церамида.

Таким образом, фумонизин В1 имеет многочисленные мишени действия в клетке, активация которых зависит от дозы фумонизина, состояния клетки на момент контакта с токсином, а также активностью сигнальных путей апоптоза и ростовых факторов в клетке. Именно комплекс условий, при которых происходит внедрение фумонизина в клетку, определяет ее судьбу и тот или иной механизм действия фумонизина В1.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ГЕПАТОСАН» ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЯДОВИТЫМИ ГРИБАМИ

Мусселиус С.Г., Гладских Л.В.

Медицинский центр УД Мэра и Правительства г. Москвы,

МСЧ № 47,

госпиталь Главмосстроя ЗАО Медминипром

Москва

Отравления ядовитыми грибами (бледной поганкой, строчками и др.) протекают с развитием острой печеночной недостаточности. Кон-

сервативное и активное лечение этой тяжелой группы больных направлено на детоксикацию организма, коррекцию гомеостаза, поддержание специфической функции печени и пораженных органов.

В последние годы для лечения больных используются ксеногенные гепатоциты в различных вариантах при проведении экстракорпоральных методов. При проведении процедур с использованием аппарата «искусственная почка» гепатоциты от крови больного разделяет полупроницаемая мембрана, ограничивающая лечебный эффект клеточной взвеси. Для повышения эффективности заместительной специфической функции ксеногенных гепатоцитов предпринимаются поиски новых вариантов их использования, одним из которых является пероральный прием. Применению лечения в клинике предшествовали экспериментальные исследования.

После серии стендовых исследований, произведена оценка эффективности лечения 30 собак с токсическим гепатитом, созданным четыреххлористым углеродом. Доза вводимых через зонд в кишечник лиофилизированных гепатоцитов составляла 0,02 г/кг. В процессе лечения отмечено улучшение клинико-биохимических показателей, в частности, стабилизация гемодинамических показателей и достоверное снижение в крови билирубина на $61,9 \pm 1,2\%$, АЛТ – на $65,9 \pm 0,3\%$, АСТ – на $78,2 \pm 0,4\%$, аммиака – на $50 \pm 3\%$, креатинина – на $17,7 \pm 1,1\%$.

В результате проведенных комплексных исследований, включающих гистохимические, установлены следующие лечебные эффекты выделенных лиофилизированных гепатоцитов: 1). Функционально активные ферментные системы гепатоцитов оказывают деструктивное действие на эндотоксины, содержащиеся в кишечнике; 2). Снижение токсической нагрузки на жизненно важные органы и системы проявляется восстановлением синтезирующей и детоксикационной функций печени животного; 3) За счет активного поглощения (пиноцитоза) эпителиальными клетками кишечника органелл гепатоцитов проявляется их гепатопротекторный эффект.

На основании проведенных многочисленных исследований была разработана клеточная биотехнология создания лекарственной формы, содержащей функционально активные лиофилизированные свиные гепатоциты. Препарат получил название «Гепатосан» (рег. № 001114/02-2002, ФСП № 42-0308-1448-01). Лекарственная форма препарата «Гепатосан» представляет собой твердую желатиновую капсулу, содержащую 0,2 г сублимационно высушенных, функционально активных гепатоцитов. Состав клеточного пула препарата «Гепатосан» по международным критериям отражен в табл. 1

Табл. 1. Процентное содержание аминокислот, витаминов, макро- и микроэлементов в высушенных гепатоцитах

Показатель	% содержания	Показатель	% содержания	Показатель	% содержания
Валин	5,9±0,3	Фосфолипиды	25±0,3	Кальций	4,1±0,16
Изолейцин	5,24±0,15	Витамин А	30±0,18	Фосфор	46±0,2
Лейцин	10,9±0,21	Тиамин	0,4±0,01	Калий	56±1,49
Лизин	8,12±0,24	Рибофлавин	3,45±0,1	Магний	7±0,21
Метионин	1,48±0,06	Витамин С	25±0,13	Сера	46,1±1,2
Треонин	5,02±0,26	Токоферол	50±0,25	Цинк	132,4±21
Фенилаланин	5,52±0,08	Витамин В12	1200±28	Железо	235,2±25

У 14 больных с отравлением ядовитыми грибами токсическая гепатопатия проявлялась энцефалопатией, желтухой. Эндогенная интоксикация приводила к снижению аппетита, вызывала тошноту, рвоту, отмечался неустойчивый стул. У всех больных имело место выраженная интоксикация – уровень молекул средней массы в крови достигал 0,640-0,810 усл. ед. Концентрация в крови АЛТ составляла – 118±16 МЕ, АСТ – 80±15 МЕ, билирубина общего – 95±23 мкмоль/л. Высокие цифры билирубина и аминотрансфераз свидетельствовали о выраженном цитолитическом синдроме. По данным УЗИ отмечался отек печеночной паренхимы и нарушение микроциркуляции в органе.

Лечение больных было комплексным и включало помимо активных и консервативных методов детоксикации и коррекции гомеостаза, пероральный прием «Гепатосана». Гепатосан назначали по 2 капсулы 3 раза в день в течение 10 дней, затем по 1 капсуле 3 раза в течение следующих 10 дней. Эффективность лечения гепатосаном во многом определялась степенью выраженности патологического процесса в печени. Среди больных с токсическим гепатитом I-II ст. положительная динамика состояния отмечалась на 7-14 сутки лечения. Клинически это выражалось улучшением самочувствия, прояснением сознания, снижением или исчезновением общей слабости, уменьшением желтухи, восстанавливался аппетит, постепенно нормализовалась функция желудочно-кишечного тракта.

К этому сроку лечения билирубинемия снижалась в среднем на 60,3%, уровень трансаминаз – АСТ на 32,5±7 %, АЛТ – на 23,4±6%. Снижались уровни индикаторов холестаза – ГГТ в среднем – на 18,4% и ЩФ – на 34,3%.

По данным УЗИ в печени отмечалось уменьшение отека паренхимы и улучшение микроциркуляции, по радиоизотопным исследованиям повышалась поглотительно-выделительная функция гепатоцитов.

У 4 больных с токсическим гепатитом II–III ст., несмотря на проводимое комплексное лечение, включающее активные методы детоксикации, было неэффективно. Высокая доза гепатотропного яда привела к развитию полиорганной недостаточности.

Таким образом, использование лиофилизированных ксеногенных гепатоцитов в комплексном лечении больных с отравлением ядовитыми грибами не вызывает каких-либо реакций или осложнений, способствует ускорению репаративных процессов в пораженном органе, оказывает детоксикационный эффект, корригирует измененный гомеостаз.

МИКОТОКСИНЫ ОХРАТОКСИН А И ФУМОНИЗИНЫ В₁ И В₂ В ПРОДУКТАХ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

*Седова И.Б., Аксенов И.В., Захарова Л.П.
ГУ НИИ питания РАМН
Москва*

Охратоксин А (ОА) и фумонизины В₁ (ФВ₁) и В₂ (ФВ₂) относятся к числу приоритетных микотоксинов, широко распространенных в различных пищевых продуктах и представляющих реальную опасность для здоровья человека. Международным агентством по изучению рака данные токсины отнесены к веществам, возможно канцерогенным для человека (группа 2В). Оба микотоксина являются нефротоксинами, ФВ₁ и ФВ₂ обладают также гепатотоксическим и нейротоксическим действием. Содержание ОА в пищевых продуктах регламентируется в более чем в 30 странах мира, в единичных странах введены ограничения на содержание фумонизинов. Данные о загрязнении этими микотоксинами пищевых продуктов в РФ отсутствуют.

Поскольку дети относятся к группе риска при воздействии вредных факторов окружающей среды, то первоочередной задачей исследования было изучение содержания микотоксинов ОА, ФВ₁ и ФВ₂ в продуктах детского питания.

Обнаружение, идентификация и количественное определение микотоксинов в пищевых продуктах проводилось методом обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентным детектированием и использованием твердофазной экстракции. Предел обнаружения составил для ОА – 0,2 мкг/кг, ФВ₁ – 0,01 мг/кг, ФВ₂ – 0,04 мг/кг. Всего было исследовано 237 образцов детского питания. Анализ фумонизинов проводился в пробах, содержащих кукурузу, ОА – пшеницу, рожь, ячмень, овес, что обусловлено преимущественным загрязнением микотоксинами этих злаковых.

ФВ1 был обнаружен в 38,5% проб из 104 изученных образцов пищевых продуктов, предназначенных для детей раннего возраста (сухие молочные и безмолочные каши, растворимые печенья и т.д.), в количестве от 0,01 до 6,80 мг/кг. 4,8% проб были загрязнены ФВ2 в концентрациях от 0,63 до 2,40 мг/кг. При анализе 108 образцов продуктов питания детей дошкольного возраста (кукурузные палочки, попкорн и т.д.) ФВ1 был обнаружен в 57,4% проб в количестве от 0,01 до 0,40 мг/кг; 5,6% образцов содержали ФВ2 – от 0,04 до 0,06 мг/кг.

Содержание ОА было исследовано в 25 образцах пищевых продуктов, предназначенных для детей раннего возраста. 24% проб были загрязнены токсином в количестве от 0,35 до 1,2 мкг/кг.

Исследования, проведенные в ряде стран, свидетельствуют о высокой частоте обнаружения микотоксинов ОА и фумонизинов в продуктах детского питания. Так, например, в Германии ОА был обнаружен в 68% образцов продуктов детского питания; в Канаде и Испании ФВ₁ был выявлен соответственно в 75 и 93% случаев.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о достаточно широком распространения ОА, ФВ₁ и ФВ₂ в продуктах детского питания и о необходимости проведения дальнейших исследований их содержания в пище в целях оценки риска для здоровья детей.

МИКОТОКСИНЫ В КОРМАХ – ОДНА ИЗ ПРОБЛЕМ СОВРЕМЕННОГО ЖИВОТНОВОДСТВА В ЮЖНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

Фетисов Л.Н., Солдатенко Н.А., Русанов В.А.

ГНУ Северо-кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт

Новочеркасск

Ростовский государственный университет

Ростов-на-Дону

Микотоксины относятся к одной из доминирующих в последние годы групп биогенных ядов, загрязняющих как корма для животных, так и продукты питания человека. По данным ФАО при ООН около 25% производимого в мире зерна поражено микотоксинами, что чревато огромными экономическими потерями.

В хозяйствах Южного Федерального Округа (ЮФО) в последние годы отмечаются значительные изменения в составе комплексов микромицетов колоса зерновых культур. Этому способствуют изменения в климате (в частности, повышение влажности воздуха в вегетационный период) Ведущая роль в поражении зерновых культур а также зерна

в период хранения по нашим данным принадлежит грибам *Fusarium gibbosum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. lateritium*, *F. nivale*, *F. solani*, *F. sporotrichoides*, *Aspergillus nidulans*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *Penicillium cyclopium*.

Всего нами исследовано 14 видов кормов из 32 хозяйств различных районов ЮФО с использованием метода конкурентного иммуноферментного анализа, разработанного во ВНИИВСГиЭ Буркиным А.А., Кононенко Г.П. и Ерошкиным А.А.

51 % проб всех проанализированных кормов содержали микотоксины, при этом 27 % проб были загрязнены двумя и более токсинами. Процент проб, содержащих концентрации, превышающие ПДК, по Т-2 токсину составил 20%, афлатоксину АВ1 – 14,5%, стеригматоцистину – 9%, охратоксину В1 – 8%, фумонизину В1 – 8%.

В 3-х базовых хозяйствах, находящихся на территории Ростовской области, Краснодарского и Ставропольского краев ЮФО, при скармливании кормов, содержащих микотоксины, было отмечено заболевание свиней. При исследованиях наиболее часто в кормах обнаруживались афлатоксин, Т-2, охратоксин, фумонизин, стеригматоцистин. Процент проб кормов, имеющих уровень загрязнения выше ПДК приведен в табл. 1.

Табл. 1. Региональные особенности загрязнения кормов микотоксинами на территории ЮФО

Административные единицы	Т-2 токсин	Афлатоксин АВ1	Стеригматоцистин	Охратоксин А-1	Фумонизин В-1	Зера-Ленон
Ростовская область	18,2	27,3	9,1	31,8	4,5	9,1
Краснодарский край	20,0	—	—	—	20,0	0
Ставропольский край	26,7	40,0	3,3	26,7	13,3	6,7

При отравлении свиней микотоксинами отмечались: угнетенные состояния, отказ от корма, эпидермальные некрозы, поражения печени и почек, отек легких, парезы и параличи, диарея и гастроэнтероколиты.

От свиноматок, которым скармливали корма, загрязненные Т-2 токсином, фумонизином и охратоксином, полученный приплод заболел на 2–3 день жизни с симптомами диареи, нервных явлений, выделением пенистых рвотных масс. Заболевшие поросята погибали в течение 5 суток, летальность достигала 90%. Патолого-анатомические изменения у павших поросят характеризовались некротическим поражением печени и гемморагическим гастроэнтероколитом.

Во всех хозяйствах, где было отмечено отравление свиней микотоксинами, лечение антибактериальными препаратами (антибиотики,

сульфаниламиды, нитрофураны) было малоэффективным. Также было отмечено, что на фоне микотоксикозов резко снижается резистентность организма заболевших животных и, как следствие, значительно возрастает уровень заболеваемости колибактериозом, сальмонеллезом, стрептококкозом, гемофиллезом а также пастереллезом.

Таким образом, микотоксикозы являются одной из серьезнейших проблем животноводства, требующей пристального внимания исследователей и проведения детальных научных исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИГЕННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО МЕТАБОЛИТА ИЗ *ASPERGILLUS PARVULUS* SMITH

Цыганенко Е.С.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного
Киев, Украина*

Грибы рода *Aspergillus* Mich. известны как продуценты широкого спектра биологически активных веществ, в том числе антибиотиков и микотоксинов. Значительное число выделенных антибиотиков так и не получило широкого практического применения из-за их достаточно высокой токсичности и наличия различных побочных эффектов.

В задачу настоящей работы входило изучение токсичности нового метаболита с широким спектром антибиотического действия.

Биологически активный метаболит был выделен из *A. parvulus* в кристаллическом виде. Он проявлял высокую активность в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Наряду с этим, он проявлял фитотоксические свойства в отношении зеленых водорослей и некоторых растений.

Исследование токсигенных свойств культурального фильтрата и выделенного препарата проводили на кроликах (кожная проба) и белых мышах (подкожное и внутрибрюшинное введение).

Для постановки кожной пробы на кролике на обритый участок кожи двукратно наносили водный раствор препарата (концентрация 0,14 мг/мл). Реакцию учитывали на 1–7 сутки. В течение исследуемого периода не было отмечено гиперемии кожи животных.

Подкожное и внутрибрюшинное введение мышам культурально-го фильтрата гриба не сопровождалось какими-либо отрицательными эффектами. Однако, как при подкожном, так и внутрибрюшинном введении водного раствора препарата в дозе 500 мг/кг на 3-и сутки исследования у 50 % мышей в местах введения отмечали проявления гиперемии III ст. диаметром 7–9 мм, которая сопровождалась исчез-

новением шерстного покрова, появлением отеков и в отдельных случаях – незначительных некрозов. При этом в 10-дневный период наблюдений активность животных и их аппетит не снижались. К 6-м суткам наблюдений участки гиперемии покрывались струпом, и кожа регенерировала. Погибших животных в опыте не отмечалось.

Таким образом, на данном этапе исследований биологически активный препарат из культурального фильтрата *A. parvulus* может быть охарактеризован как «условно нетоксичный» для теплокровных животных.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ТОКСИНОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ПАТОГЕНОВ

Шемшур О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н., Январева Н.И.
Институт микробиологии и вирусологии РК
Алма-Ата, Республика Казахстан

Фитопатогены и фитопаразитические нематоды являются одними из наиболее патогенных для растений групп организмов, которые нередко сопутствуют друг другу, усиливая свое вредное воздействие. Эффективных и экологически безопасных способов защиты растений от этих патогенов до сих пор не найдено.

Перспективными направлениями поиска пестицидов, сочетающих высокую биологическую активность с токсикологической и экологической безопасностью для человека и окружающей среды, является изучение природных агентов, а именно: биологически активных веществ растительного и микробного происхождения.

В результате скрининга 50 штаммов микроскопических грибов, выявлено 4 продуцента дикетопиперазиновых соединений (*Aspergillus sp.* 149, *Penicillium sp.* 747; 826; 340) и 3 продуцента хинолиновых соединений (*Aspergillus sp.* 127; *Penicillium sp.* 216 и 747). Определены максимумы накопления хинолиновых и дикетопиперазиновых соединений в условиях поверхностного и глубинного роста культур.

Впервые установлено, что в результате действия дикетопиперазиновых и хинолиновых соединений поражаются репродуктивная и пищевая системы нематод, а по характеру действия на насекомых, эти метаболиты близки к нейротоксинам. Антимикробное действие метаболитов происходит в результате нарушения структуры мембраны и изменение ее проницаемости (в случае бактерий), а также морфологическими нарушениями мицелия (в случае грибов). Характер действия метаболита дикетопиперазиновой природы 340-д на растения пшеницы, аналогично действию гетероауксина, вследствие чего ускоряется дифференцировка и усиливается рост проростков. Выявлены действующие концентрации метаболитов в отношении тест-объектов.

Проведенная идентификация выделенных метаболитов позволила отнести метаболит 826-д к аналогу мелеагрина; метаболит 747-д к производным индола; метаболиты 747-х и 127-х к аналогам виридикатина, метаболиты 340-1х и Р-2х к N-ацетилтриптомину и метаболит 340-д к рокефортину.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ АРАХИСА ГРИБАМИ РОДА *ASPERGILLUS* И АФЛОТОКСИНАМИ

Юсеф О., Эбрагим О., Баргум Б.

*Научные агрономические центры Камешили, Латакии, Ал-Габе
Сирия*

Микологический анализ 155 образцов арахиса, собранного в Сирии в период 2003-2004 годов показал, что все проанализированные образцы были загрязнены микроскопическими грибами в разной степени от 3×10^2 до $3,1 \times 10^7$ КОЕ/г продукта.

Выделены и идентифицированы 170 изолятов грибов из 6 видов рода *Aspergillus*, большинство изолятов относилось к видам *A. niger* (51,61%) и *A. flavus* (38,71%). Биологический анализ показал токсичность у 38,3% изолятов вида *A. flavus*. Химические методы с помощью ТСХ обнаружили афлатоксин В1 в 9,68 % образцов в концентрации 9–108 мкг/кг продукта. При культивировании изолятов вида *A. flavus* на жидкой среде Чапека 26,7% из них продуцировали афлатоксин В1 в концентрации 5–600 мкг/100 мл среды.

Глава 5

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИМИКОТИКИ. НОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И МЕТОДЫ С ПРОТИВОГРИБКОВЫМИ СВОЙСТВАМИ

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА И ПРОФИЛАКТИКИ КАНДИДОЗА КИШЕЧНИКА

Барышникова Н.В.¹, Оришак Е.А.¹, Нилова Л.Ю.¹, Суворов А.Н.²

1 – СПбГМА имени И.И. Мечникова

2 – ГУ НИИЭМ РАМН

Санкт-Петербург

Цель: оценить эффективность использования пробиотика «Ламинолакт» для коррекции дисбиоза толстой кишки и повышенной обсемененности кишечника грибами рода *Candida* у больных хроническим гастродуоденитом (ХГД), ассоциированным с инфекцией *Helicobacter pylori* (НР).

Материалы и методы: под наблюдением находилось 18 больных ХГД, ассоциированным с НР. Всем больных до и после лечения проводилось бактериологическое исследование кала. Все пациенты получали монотерапию пробиотиком «Ламинолакт» по 3 драже, 3 раза в день, 30 дней.

Результаты: до лечения у всех больных определялся дисбиоз кишечника преимущественно 2–3 степени тяжести, что выражалось в снижении количества представителей нормофлоры и повышении уровня условно-патогенных микроорганизмов и грибов рода *Candida*. Увеличение грибов рода *Candida* наблюдалось у 33% пациентов и составляло $4,00 \pm 0,65$ IgКОЕ/л. На фоне терапии определялось улучшение микрофлоры толстой кишки: количество бифидобактерий увеличилось у 78%, лактобактерий – у 83%, *E. colic* нормальной ферментативной активностью – у 72%, уменьшение *E. coli* со сниженной ферментативной активностью зарегистрировано у 61% пациентов. В целом выявлялось снижение количества условно-патогенных микроорганизмов у 94% больных, уменьшение кишечной палочки со сниженной ферментативной активностью у 72% и уменьшение роста стафилококка у 44%. Количество грибов рода *Candida* после лечения уменьшилось до $2,33 \pm 0,87$ IgКОЕ/л ($p < 0,05$), данные представители микрофлоры кишечника определялись лишь у 17% пациентов.

Заключение: использование пробиотика «Ламинолакт» способствует коррекции нарушений качественного и количественного состава микрофлоры кишечника, а также снижению уровня грибов рода *Candida*, что позволяет рекомендовать этот пробиотик для профилактики кандидоза кишечника.

ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ АНТИФУНГАЛЬНЫХ ВАКЦИН

Блинкова Л.П., Горобец О.Б.

*ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН
Москва*

Стремительная эскалация различных форм микозов у человека, часто связанных не только с антисанитарными условиями и нерациональным применением лекарств, но и с иммунодефицитом при ВИЧ-инфекции, онкологических, гематологических и других болезнях, указывает на необходимость решения этой серьезной медицинской проблемы с помощью антифунгальных вакцин. Однако по сравнению с существующими лицензированными вакцинами против бактериальных и вирусных инфекций, профилактические антимикозные препараты еще только разрабатывают и испытывают.

Наиболее важными являются вакцины против особо опасных возбудителей: *Histoplasma capsulatum* (гистоплазмоз), *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis* (кокцидиоидомикоз и параккокцидиоидомикоз), *Cryptococcus neoformans* (криптококкоз), *Blastomyces dermatitidis* (бластомикоз), *Pneumocystis carinii* (пневмоцистоз). Необходима также профилактическая защита от грибов, многие из которых, являясь оппортунистами, способны вызывать поверхностные, глубокие или системные микозы: от дерматофитов (*Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*), от широко распространенных дрожжеподобных грибов (*Candida spp.*, *Malassezia furfur*, *Trichosporon beigeli* и др.), от мицелиальных грибов гифо- и зигомицетов (*Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Acremonium spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus oryzae*, *Absidia corymbifera* и др.), от диморфных грибов (*Sporothrix schenckii*, *Phialophora verrucosa* и др.) [Deer G.S. 1997, Dixon D.M. et al. 1995].

По мнению исследователей [Ada G.L. et al. 1997, Deer G.S. 1997], помимо требования высокой иммуногенной эффективности, вакцины из инактивированных клеток или их компонентов должны быть стерильными и нетоксичными. Препараты из живых возбудителей, должны предотвращать распространение в организме экзогенного микологического агента, быть безопасными при сохранении в латентном состоянии возбудителя в организме хозяина, а также не вызывать у людей побочных реакций.

Заметных успехов в разработке средств профилактики кокцидиоидомикоза ученые добились к середине 80-х годов XX века [Parragianian D., Valley Fever Vaccine Study Group, USA, 1993]. Около 3 тыс. человек, принявших участие в испытаниях вакцины и выбранных по принципу «слепой» рандомизации, получили либо убитые формальдегидом целые сферулы, либо физиологический раствор (плацебо, контроль). В течение 5 лет наблюдений у 12 пациентов из контрольной группы у 9 – в

группе вакцинированных развился кокцидиоидомикоз. Различия в результатах, однако, статистически недостоверны. При этом у менее, чем 30% вакцинированных выявлен иммунный ответ на препарат из сферул. Обнадёживающие результаты для создания антифунгальных препаратов получены ветеринарами на млекопитающих, вакцинированных *Rythium insidiosum* накожно, подкожно и системно с двумя вакцинами [Miller R.J. 1981, Mendoza L. et al. 1992]. Эффективные препараты получали из антигенов, разрушенных ультразвуком гиф, культуральных фильтратов, экстрактов культур.

При создании антифунгальных вакцин исследователи обнаружили недостаточность обобщенных эпидемиологических данных по микозам (о группах риска, включая возрастной период; по конкретным нозологическим формам, ареалу распространения возбудителя, установления эндемических инфекций и т.д.). В США эти данные собирают по стационарам, т.к. сообщения о некоторых микозах не отсылают в соответствующие центры. Кроме того, из-за увеличившейся транснациональной миграции населения трудно получить информацию по установлению природы первичного микогенного заражения [Deer G. 1977].

Выявление возбудителей осложняется также ограниченностью набора диагностических препаратов. Кроме гистоплазмина, криптококцина, бластомицина, кокцидиоидина и сферулина, практически, не существует тест-препаратов такой природы, особенно для выявления глубоких микозов. К тому же диагностическая ценность криптококцина и бластомицина считается сомнительной [Palmer C.E. et al. 1960, Muchmore J.G. et al. 1968, Schimpff S.C. 1975]. В нашей стране, к сожалению, не выпускают необходимой номенклатуры коммерческих диагностических сред и тест-систем для грибов. Успехи в области молекулярной биологии и химии белков способствовали разработке за рубежом коммерческих диагностических тест-систем для грибковых патогенов.

Практическое использование вакцин требует изучения механизмов их действия. Протективный эффект антифунгальных вакцин объясняют с позиций врожденного и приобретенного иммунитета, ассоциированного с гуморальными и клеточными факторами. Доказано, что антитела являются ключевыми элементами протективного иммунного ответа к комплексным антигенам грибов [Casadevall A. et al. 1994]. С помощью техники моноклональных антител в поликлональной антисыворотке идентифицированы 3 типа антител, включая протективные. Исследования с антителами к *C. albicans* и *C. neoformans* являются одним из примеров эффективного влияния антител на иммунитет к грибам [Deer G.S. 1997]. Однако иммунная сыворотка оказывала протективное действие не во всех случаях [Casadevall A. 1995]. При этом выявлена тесная корреляция между молекулярной композицией антител и их биологической активностью (показано на моноклональных антителах к капсульным полисахаридам *C. neoformans*).

Имеется несколько механизмов, объясняющих существенную роль противогрибковых антител [Casadevall A. 1995]. Так, антитела могут действовать как опсонины, повышая фагоцитоз грибов с последующей агглютинацией фунгальных элементов. Антитела способны связывать циркулирующие элементы микромицетов, такие как маннан из *C. albicans* или полисахарид из капсулы *C.neoformans*, модулирующий экспрессию клеточного иммунитета. Антитела к грибам могут блокировать клетки хозяина, лимитируя инфекционный процесс. Показано, что мыши, иммунизированные убитыми нагреванием клетками *C.albicans*, имели интенсивный специфический иммунный ответ на гуморальном и клеточном уровне [Bromuro C. et al. 2002].

Иммунокомпетентные клетки играют решающую роль в защите организма от патогенных грибов. Показано, что животные с дефицитом Т-клеток более чувствительны к грибковой инфекции. При этом пассивный перенос сенситизированных Т-клеток может привести к элиминации грибов [Balish E. et al. 1996, Beck J.M. et al. 1996, Menacci A. et al. 1996]. В эксперименте на животных Т-клеточные субпопуляции CD4⁺ и CD8⁺ показали способность к воздействию на *H. capsulatum*, *C.neoformans*, *C.albicans*, *P.carinii* [Theys 1995].

Другим эффекторным механизмом является цитотоксическая активность. Эта функция характерна для CD8⁺-Т-клеточной субпопуляции, хотя CD4⁺-Т-клетки способны проявлять цитолитическую активность [Murphy J.N. et al. 1993]. CD8⁺-Т-клетки могут поражать гифы *C. albicans* и непосредственно убивать *C.neoformans* [Beno D.W. et al. 1995, Levitz S.M. et al. 1995]. Имеются опасения, что у людей с развившейся грибковой инфекцией может появляться ослабление иммунной системы, и это может помешать формированию протективного ответа на вакцину [Casadevall A. et al. 2003]. В сообщении Wuthrich M. et al. (в 2003 г.) указано на возможность защиты мышей с CD4⁺-Т-клеточным дефицитом при иммунизации против внеклеточного патогена *B.dermatitidis* и факультативного внутриклеточного возбудителя *H.capsulatum*. Индукция и сохранение протективного иммунитета были созданы CD8⁺-Т-лимфоцитами. Иммунологическое изучение показало, что CD4⁺ Т-лимфоциты являются решающим компонентом для успешной защиты против этих возбудителей. Применение живого аттенированного штамма *B.dermatitidis* и живой культуры *H.capsulatum* было неэффективным при CD4⁺-Т-лимфоцитарной недостаточности. Для индуцированного антифунгальной вакциной иммунитета CD4⁺-Т-клетки необязательны. Наоборот, CD8⁺-Т-клетки обеспечивали длительную протекцию при отсутствии CD4⁺ лимфоцитов. Этот факт имеет большое значение для обоснования возможности вакцинации иммунокомпрометированных лиц против микозов.

При изучении фунгальных иммуногенов выявлено, что существует сотня или тысяча молекул, способных стимулировать иммунный ответ. У *C. albicans* это маннан, эналаза, маннопротеин [Sundstrom P. 1994];

у *C.neoformans* – капсула, клеточная стенка и клеточная мембрана. Интересны молекулы, взаимодействующие с клеточной поверхностью как лиганды. Так, маннаны функционируют как адгезины и влияют на протективный иммунитет.

В настоящее время ведутся разработки по получению фунгальных протеинсодержащих иммуногенов с помощью рекомбинантных технологий, которые позволяют также картировать иммуногенные детерминанты белков [Deer G. 1997]. Предполагается их экспрессия в прокариотических системах. Очень важно установить наименьшее количество фрагментов, способных давать защиту, и затем элиминировать неспецифические белки. Поскольку геном грибов имеет большое количество генов, есть опасения, что может не быть экспрессии фунгальных белков у прокариотов из-за размера фрагментов [Dixon D.M. 2000]. Слабо иммуногенные углеводороды из *C.neoformans* или *C. albicans* требуют при их выделении дополнительной очистки.

Для повышения иммуногенности фунгальных компонентов применяют адьюванты, например, соли алюминия, адьювантные пептиды, бактериальные компоненты, цитокины IL 12 [Vitiello A. 1995, Deere G.S. et al. 1996]. Как оказалось, конъюгаты углеводов грибов со столбнячным токсиндом [Casadevall A. et al. 1992, 2003] и β -глюканом из ламинарии [Honey K. 2005], стимулировали иммуногенность антигрибковых препаратов. Увеличения иммуногенных свойств субстанций можно также достичь при введении маннано-липосом из *C. albicans* с липосомами, [Han Y. et al. 1995, Bromuro C. et al. 2002].

В настоящее время методологией новых достижений в борьбе с грибковыми патогенами является ДНК-вакцинация [Cho J. et al. 2004]. При этом исключается риск инфицирования, существующий при использовании нереконбинантных живых фунгальных вакцин. Для вакцин могут быть использованы созданные авирулентные или слабовирулентные штаммы грибов. Однако неясно, защищают ли они от инфицирования грибами дикого типа [Deer G.S. 1997].

По-видимому, реальным также является создание терапевтических антифунгальных вакцин, индуцирующих образование антител к возбудителям. Для больных СПИДом и других пациентов, имеющих иммунодефициты, наиболее перспективными считают применение вакцин в комплексе с цитокинами, а также проведение вакцинации с инфузией иммунокомпетентных Т- или В-клеток.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОЦИНОВ ПРИ ДИСБИОЗАХ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ГРИБКОВЫМИ ПАТОГЕНАМИ

*Блинкова Л.П., Горобец О.Б., Дорофеева Е.С.
НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова РАМН
Москва*

При дисбиотических нарушениях качественного и количественного состава микрофлоры кишечника, влагалища, дыхательных путей, урологического тракта и т.д. часто выделяют возбудителей микозов. Так, при недавнем изучении дисбиоза кишечника у 2378 москвичей разного возраста (от нескольких недель до свыше 65 лет) обнаружены грибы рода *Candida*, которые доминировали среди факультативной микрофлоры во всех возрастных группах, составляя в некоторых случаях свыше 50% микробной численности. Исследователи выявили, что *S. albicans* выделяют при дисбиотических нарушениях с наиболее высокой частотой (42–65%) в ассоциации со стафилококками [Бойков С.С. и др., 2005]. Вероятно, ассоциация патогенов разных групп создает определенные трудности при подборе терапевтических средств.

Несмотря на обилие препаратов против грибковых инфекций продолжается поиск новых эффективных антимикотиков.

В настоящее время у исследователей возродился интерес к бактериоцинам, которые в зависимости от продуцента обладают антибактериальной активностью в отношении широкого спектра микроорганизмов благодаря низкомолекулярному (пептидному) компоненту.

Продукция бактериоцинов выявлена у многих представителей нормофлоры, условно-патогенных и патогенных бактерий, которые могут совместно присутствовать в организме. Спонтанный или индуцированный синтез бактериоцинов установлен у *E. coli* и *Shigella* (колицины), *Salmonella* (сальмоцины), *Klebsiella* (клебоцины), *Serratia marcescens* (марцесцины), *Hafnia alvei* (альвеицины), *Enterobacter cloacae* (клоацины), *Vibrio* (вибриоцины) и т.д.

Эффективность действия пробиотических культур, используемых для коррекции дисбиотических состояний, во многом зависит от продукции бактериоцинов. Например, у одного из первых штаммов *E. coli*, использованных для создания пробиотика (препарат «Мутафлор»), выявили колицин X. Активность штамма *E. coli* M 17 (препарат колибактерин), как считают, связана с присутствием колицина.

Интересно, что роды *Lactobacillus* и *Lactococcus* характеризуются высокой частотой образования бактериоцинов (низин, лактацины, педиоцины, хельветицины, ацидоцины и т.д.). Имеются сообщения о наличии бактериоцинов у *Bifidobacterium*. Культуры рода *Bacillus* характеризуются высокой частотой синтеза антимикробных веществ. Препараты на основе этих культур (бактисубтил, биоспорин, бак-

тиспорин и др.) используют для терапии при кандидозах, криптококкозах, трихофитии и др. В ряде случаев пробиотические препараты на основе автохтонной микрофлоры могут конкурировать с классическими антибиотиками по ингибиторной активности в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, включая дрожжеподобные грибы.

По-видимому, следует заключить, что бактериоцины, применяющиеся в составе пробиотиков длительное время без побочного действия, можно отнести к перспективной группе антагонистически активных субстанций, подлежащих дальнейшему изучению.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ КАНДИДОЗОВ ЛОР-ОРГАНОВ

*Вольская О.Г., Шинкаренко Л.Н.¹, Зарицкая И.С., Заболотная Д.Д.
Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко,
1 – Национальный технический Университет Украины «КПИ»
Киев, Украина*

Целью данного исследования было изучение антагонистического воздействия лактобактерий *Lactobacillus murinus* и *Lactobacillus rhamnosus* и их продуктов метаболизма на грибы рода *Candida* и возможность использования антимикотических препаратов в комплексе с селекционированными штаммами лактобактериями, на основе которых разработаны пробиотические препараты.

Для исследования использовались грибы рода *Candida* выделенные по стандартным методикам от больных хроническим тонзиллитом и гайморозтмоидитом. Видовой состав используемых грибов был следующим: *C. albicans* – 25, *C. tropicalis* – 10 и *C. krusei* – 5 штаммов. В работе использовались препараты пробиотики – “Лактолор” (*Lactobacillus murinus*– $5 \cdot 10^9$ кл/мл), “Ацидолор” (*Lactobacillus rhamnosus* – $5 \cdot 10^9$ кл/мл) и “Ацидолак” (смесь *Lactobacillus murinus* и *Lactobacillus rhamnosus* в равных количествах – $10 \cdot 10^9$ кл/мл.). Для изучения антагонистического действия лактобактерий на грибы рода *Candida* использовался метод отсроченного антагонизма при культивировании в жидкой среде. Для изучения фунгицидной активности продуктов метаболизма лактобактерий (супернатантов культуральных жидкостей 24 и 48 часов культивирования) была использована методика определения бактерицидного (фунгицидного) действия. Влияние продуктов метаболизма лактобактерий на чувствительность грибов рода *Candida* изучалось по методу двухслойного агара. В работе использовались диски с антимикотиками нистатин (80 мкг/диск), итраконазол (10 мкг/диск), флуконазол (40 мкг/диск),

амфотерицин (40 мкг/диск) и клотримазол (10 мкг/диск), производства НИЦФ г. Санкт-Петербург.

В результате экспериментов выяснилось, что антагонистическое действие лактобактерий распространяется на все исследуемые штаммы. Устойчивыми оказались 3 штамма *C. albicans* из 25, 1 штамм *C. krusei* из 5, все 10 штаммов *C. tropicalis* были чувствительны.

Вне видовой принадлежности грибов рода *Candida* антагонистическое действие лактобактерий было одинаковым, то есть фунгицидная активность лактобактерий по отношению к разным видам грибов проявлялась в одинаковых их концентрациях.

При исследовании влияния метаболитов лактобактерий на чувствительность грибов к антимикотикам в эксперименте использовались различные концентрации лактобактерий, которые наносили на нижний слой агара и различное время культивирования лактобактерий до посева грибов на верхний слой агара. При концентрации лактобактерий 10^9 КОЕ/мл грибы не вырастали. Роста грибов не было выявлено и в тех случаях, когда лактобактерии предварительно инкубировали на протяжении 24 часов до посева грибов. Таким образом, подтверждалась фунгицидная активность метаболитов лактобактерий.

Грибы рода *Candida* для эксперимента были взяты как чувствительные к антигрибковым препаратам, так и резистентные (видовой состав описан выше), хотя грибов резистентных к нистатину и клотримазолу было очень немного.

Согласно общепринятым критериям оценки, диско-диффузионным методом, чувствительность грибов под воздействием продуктов метаболизма *Lactobacillus ghamnosus* изменилась следующим образом: штаммы *C. albicans*, которые не были чувствительны к итраконазолу, становились чувствительными, зоны задержки роста чувствительных к итраконазолу штаммов увеличивались на 5–13 мм. Чувствительность к нистатину и клотримазолу оставалась постоянной, а устойчивость к амфотерицину флуконазолу сохранялась. Зоны задержки роста штаммов чувствительных к флуконазолу увеличивались на 5–11 мм. Штаммы *C. tropicalis* становились более чувствительными ко всем антимикотикам – зоны задержки роста увеличивались в среднем на 5 мм. Штаммы *C. krusei* не изменили своей чувствительности к противогрибковым препаратам.

Чувствительность грибов под воздействием продуктов метаболизма *Lactobacillus turginus* изменялась следующим образом. Штаммы *C. albicans*, не чувствительные к клотримазолу, становились чувствительными – зоны задержки роста увеличивались на 15 мм и больше, резистентность к итраконазолу сохранялась, хотя штаммы не чувствительные становились слабо чувствительными к итраконазолу. Зоны задержки роста *C. albicans* нистатином, флуконазолом и амфотерицином снижались в среднем на 3 мм. Грибы *C. tropicalis* становились чувствительными к итраконазолу – зоны увеличивались на 15 мм и больше,

чувствительность к нистатину и амфотерицину снижалась, зоны уменьшались в среднем на 10 мм. В случае с *C. krusei* повышение чувствительности наблюдалось к клотримазолу и итраконазолу, чувствительность к другим препаратам оставалась на прежнем уровне.

В результате можно констатировать, что при увеличении концентрации лактобактерий в нижнем слое агара наблюдалось фунгицидное действие метаболитов селекционированных штаммов на грибы.

Полученные нами данные свидетельствуют о синергизме антимикотического действия селекционированных штаммов лактобактерий с антимикотическими препаратами. Такое интегральное воздействие на грибы может быть объяснено как непосредственным влиянием продуктов метаболизма *Lactobacillus murinus* LE и *Lactobacillus rhamnosus* LB3, так и моделированием чувствительности грибковой флоры к антимикотикам. Следует отметить, что наиболее активный синергизм при комплексном использовании лактобактерий и антимикотиков наблюдался в экспериментах с азольными препаратами.

Таким образом, нами показана возможность комплексного применения отдельных антимикотических препаратов с пробиотиками на основе селекционированных культур лактобактерий для лечения микозов ЛОР-органов.

РОСТ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ПРИСУТСТВИИ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Гончарова И.А., Ровбель Н.М., Мицкевич А.Г.

*Институт микробиологии НАНБ
Минск,*

Современный человек большую часть времени проводит в помещениях, поэтому их санитарное состояние особенно важно для здоровья. Актуальной проблемой жилых и рабочих помещений является засоренность микроскопическими грибами, которых обычно называют плесневыми. Находящиеся в воздухе грибные споры являются биологическими аллергенами, а некоторые из них вызывают различные грибковые заболевания – микозы. Проблема микробиологической безопасности особенно остро стоит в замкнутых помещениях (подводные лодки, космические станции и т.д.) так как искусственная среда обитания, комфортная для человека, создает благоприятные условия для развития большинства известных микроорганизмов.

Одним из способов защиты природных и промышленных материалов от поражения плесневыми грибами является использование химических соединений с биоцидной активностью. Широко применяются дезинфицирующие растворы, в состав которых входят четвертичные

аммониевые соединения (ЧАС). Препараты этого класса соединений широко применяются в медицине, ветеринарии, пищевой промышленности и др. Они обладают выраженными антимикробными свойствами, малотоксичны для человека, хорошо растворимы в воде, не вызывают коррозии металлов, не имеют резкого запаха, не вызывают аллергии. В странах СНГ широкое распространение получили препараты катамин АБ, этоний, тионий мирамистин и т.д.

Катамин АБ является одним из немногих биоцидных препаратов, разрешенных к применению в музейной практике, поэтому он активно используется для защиты от плесневого поражения предметов, находящиеся в хранилищах, расположенных в подвалах, не имеющих систем вентилирования, и других помещениях с нерегулируемым температурно-влажностным режимом. Первичная обработка экспонатов водным раствором катамина АБ вначале предохраняет их от появления признаков плесневого поражения на достаточно длительный период, но затем обработанные биоцидом предметы вновь покрываются грибными гифами. Каждая последующая обработка ускоряет обрастание, увеличивает плотность мицелия и площадь поражения.

Появление резистентности к биоцидам является одной из серьезных проблем в области борьбы с плесневением. Было выявлено, что даже при экстремально высоких концентрациях ЧАС некоторые грибные споры сохраняют свою жизнеспособность. В 10%-ном растворе катамина АБ основная масса спор коллекционного штамма гриба *Aspergillus niger* (*A. niger* М) погибла уже после 1-минутной экспозиции, но небольшая часть (0,5-0,7 %) сохранила жизнеспособность даже при двухчасовом воздействии препарата. Споры катаминустойчивого штамма данного вида, выделенного из музейного хранилища (*A. niger* К), активно росли на агаризованной среде Чапека–Докса с 0,2% биоцида, тогда как у исходной культуры уже при 0,1 %-ном содержании происходило полное подавление роста.

В жидкой питательной среде минимальная ингибирующая концентрация катамина АБ для *A. niger* М составила 0,01%, для *A. niger* К – 0,05 %. При субстатических концентрациях лаг-фаза возрастала с увеличением концентрации биоцидов в равной степени у обоих штаммов, однако после перехода в стадию активного роста накопление биомассы *A. niger* К шло более интенсивно по сравнению с исходным штаммом.

Гриб *A. niger* известен способностью выделять в окружающую среду значительное количество органических кислот, в первую очередь лимонную. Несмотря на то, что среда Чапека–Докса обладает буферными свойствами и содержит физиологически основной источник азота нитрат натрия, в процессе роста *A. niger* М рН среды снижался с 6,0 до значений 3,8–4,2. *A. niger* К подкислял питательную среду еще значительнее, до рН 2,8–3,0. Добавление 0,001% катамина АБ усилило подкисление среды, конечный рН *A. niger* М в этом случае составил 3,3, *A. niger* К – 1,6.

Биоцидные свойства ЧАС в максимальной степени проявляются в нейтральной и слабо щелочной среде. Способность резистентного штамма *A. niger* К расти в присутствии высоких концентраций катамина АБ, возможно, обусловлена в первую очередь его способностью подкислять окружающую среду, нейтрализуя токсическое действие препарата.

Несмотря на активное использование ЧАС в течение достаточно длительного времени, работа по повышению противомикробной активности четвертичного аммония путем синтеза новых производных и дополнительного введения других соединений продолжается. Препарат этоний, относящийся к бис-четвертичным аммониевым соединениям, получил признание в медицине как эффективное антибактериальное средство. Фунгицидная активность этония значительно выше, чем у катамина АБ, он в меньшей степени зависит от кислотности среды, не имеет запаха, низкая токсичность для человека позволяет вводить его в состав лекарственных средств. Однако различные аспекты взаимодействия данного препарата с грибами в должной степени еще не изучены.

Микробиоцидное действие ЧАС связано в первую очередь с дезорганизацией биополимеров клеточной оболочки, вызывающей нарушение ее проницаемости. Следствием этого является «утечка» низкомолекулярных продуктов обмена веществ, имеющих жизненно важное значение. Сравнительное изучение действия катамина АБ на аминокислотный пул грибов (качественный и количественный анализ аминокислот проводили с помощью автоматического анализатора аминокислот) показало, что у резистентных штаммов утечка аминокислот из мицелия в присутствии биоцида происходит в не столь значительных количествах, как у чувствительных культур. У *A. niger* М содержание свободных аминокислот в среде после 3 ч инкубации с 0,05% катамина АБ возросло в 15 раз, содержание белковых аминокислот в биомассе уменьшилось почти в 2 раза. У *A. ustus* в этих условиях содержание свободных аминокислот в среде увеличилось в 5 раз, содержание белковых аминокислот в биомассе при этом практически не изменилось, количество свободных внутриклеточных аминокислот уменьшилось на 10% .

Подобные закономерности характерны и для этония с той лишь разницей, что не выявлено значительных различий между отдельными грибными культурами. В то же время было обнаружено, что при низком содержании этония (0,01%) утечка свободных и связанных аминокислот в окружающую среду сопровождается их усиленным синтезом, содержание белка в биомассе при этом значительно повышается.

Таким образом, многократное использование препаратов на основе четвертичных аммониевых соединений может привести к стимуляции развития плесневых грибов, при этом аминокислоты, выделяющиеся в окружающую среду, могут стать источником питания для бактериальной микрофлоры.

АНТИФУНГАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО АМИНОАДАМАНТАНА ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖЕПОДОБНЫМ ГРИБАМ

Денысюк Н.Н., Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н., Короткий Ю.В.
Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
Киев, Украина

В настоящее время во всем мире отмечается увеличение количества заболеваний, обусловленных грибами. Если в 1970–80 годах частота грибковых инфекций составляла 3–5%, то сейчас эта цифра возросла до 25% [Родионов А.Н., 2000]. В Украине по данным «Ахиллес-проекта» [Пятикоп И.А., 2001] микозы обнаружены у 31% населения. Возбудителями заболеваний нередко являются условно-патогенные грибы, в частности, представители рода *Candida*. Так, по результатам наших исследований 126 штаммов микроорганизмов, выделенных из ран больных с гнойно-воспалительными процессами, 28% составляли грибы рода *Candida*.

Таким образом, несмотря на наличие значительного арсенала химиотерапевтических средств, количество заболеваний грибковой природы не только не уменьшается, а даже увеличивается. Такая ситуация обусловлена многими причинами, но главная — рост резистентности возбудителей к антифунгальным препаратам.

Одним из путей решения этой проблемы является поиск соединений, обладающих антигрибковой активностью, среди новых химических классов.

В этом плане большой интерес представляют производные адамантана. Ранее нами было установлено, что соединение 1-адамантил-4-(1-аминобутил) бензол обладает широким спектром антимикробного действия — угнетает рост и развитие бактерий и грибов [Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н., 2004]. Эти данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего поиска антифунгальных соединений среди производных аминоадамантана. В Институте органической химии НАН Украины синтезировано новое адамантаносодержащее соединение под шифром ЮК-21.

Цель нашей работы — изучить антигрибковые свойства соединения ЮК-21.

В опыте были использованы следующие грибы: *C. albicans* NCTC 885/653, *C. parapsilosis* УКМу-73, *C. tropicalis* УКМу-2473, *C. glabrata* УКМу-2383, *C. utilis* ЛИА-1.

Антигрибковые свойства соединения ЮК-21 изучали *in vitro* методом серийных разведений в жидкой питательной среде Сабуро, плотность инокулята составляла 105 КОЕ на 1 мл среды. О наличии антифунгального действия судили на основании определения минимальной подавляющей концентрации (МПК), для определения фунгицидной

концентрации (МФцК) с пробирок, в которых отсутствовал рост микроорганизмов проводился посев на плотную питательную среду Сабу-ро, через 24–48 ч инкубации в термостате при температуре 25–30° С. В каждом опыте было не менее трех повторов.

Проведенные исследования показали, что соединения ЮК-21 обладает антигрибковыми свойствами по отношению к эталонным штаммам грибов рода *Candida*. При этом фунгистатическая и фунгицидная активность совпадают и составляют по отношению к *C. parapsilosis* – 0,07 мкг/мл, *C. utilis* – 1,25 мкг/мл, *C. albicans* и *C. glabrata* – 2,5 мкг/мл, *C. tropicalis* – 5,0 мкг/мл.

Таким образом, в условиях *in vitro* адамантансодержащее соединение ЮК-21 проявляет выраженные антифунгальные свойства по отношению к дрожжеподобным грибам, особенно *C. parapsilosis*. Эти данные свидетельствуют о целесообразности изучения действия ЮК-21 на другие виды грибов, а также на бактерии.

К ВОПРОСУ О ПОИСКЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ В МИКОЛОГИИ

Дигтярь А.В., Воронина Е.К.

*Московская Медицинская Академия им. И.М. Сеченова
Москва*

В последние годы в научной литературе появляется все больше свидетельств об обнаружении антигрибковых соединений в морских организмах, прежде всего в морских животных. Не подлежит сомнению, что ряд морских животных образует уникальные вторичные метаболиты, нехарактерные для наземных организмов. При этом многие из этих веществ являются эффективными противогрибковыми агентами, действующими высокоизбирательно и не влияющими на клетки человека. Так, например, из губок рода *Halichondria* выделены макролиды халишигамид А и халихондрамид, полностью подавляющие рост *Trichophyton mentagrophytes* и *Candida albicans* в концентрациях менее 300 нг/мл. В губке *Ptilocaulis spiculifer* обнаружен полициклический гуанидиновый алкалоид птиломикалин А, МПК50 которого в отношении *C. albicans* составляет 0,8 мкг/мл. Птиломикалин А эффективен также при терапии герпетической лихорадки. Ряд фармакологически активных веществ, главным образом пептидной природы, выделен из морских асцидий, моллюсков, актиний и различных глубоководных водорослей.

Эти примеры демонстрируют высокую значимость исследований морской фауны, ориентированных на поиск естественных перспективных антигрибковых веществ. В России, имеющей выход к трем океанам, в настоящее время не уделяется должного внимания подобным

проектам. Однако необходимость всестороннего изучения морских организмов и скрининг их метаболитов, обладающих ингибирующим действием в отношении патогенных микроорганизмов, не вызывает сомнений. Такие исследования, координируемые в соответствии с ареалом обитания морских организмов в прилегающих к России морях, являются, на наш взгляд, важнейшей составляющей частью поиска новых лекарственных средств, в том числе в микологии.

ПОИСК МИКРОБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БАКТЕРИОЦИНОВ ИЛИ БАКТЕРИОЦИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИКАНДИДОЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Дорофеева Е.С., Блинкова Л.П., Машенцева Н.Г.
НИИ вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова РАМН
МГУ прикладной биотехнологии
Москва

В связи с необходимостью поиска эффективных средств при дисбиотических нарушениях для шадящего избирательного воздействия на микрофлору, в составе которой появилась *C. albicans*, нами были испытаны оригинальные и музейные культуры на способность продуцировать бактериоцины или бактериоциноподобные вещества.

Известно, что бактериоцины, являясь природными низкомолекулярными пептидными (белковыми) комплексами, обладают способностью к селективной деконтаминации, что важно для сохранения нормофлоры [Stevens K.A. et al., 1991, van Belkum M.J., 1994, Venema K., 1995, Rolf R.D., 2000, Sablon E. et al., 2000].

Методом отсроченного антагонизма [Кудлай Д.Г., Лиходед В.Г., 1966, Блинкова Л.П., 1986] на продукцию вещества тестировали культуры рода *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, выделенные с мясной продукции, а также коллекционные и свежевыделенные штаммы *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*.

Из 40 изученных штаммов только 1 штамм оказывал ингибиторное действие в отношении *C. albicans* ATCC 885-653.

Выделенный из окружающей среды штамм *Micrococcus* sp. оказался высокоактивным в отношении индикаторных культур сем. *Staphylococcaceae*. Однако подавления роста тест-штамма *C. albicans* не выявлено.

Необходимо отметить, что, например, стафилококки часто встречаются в ассоциации с *C. albicans* [Бойков С.С. и др., 2005, Чернуха

М.Ю. и др., 2005]. Поэтому, на наш взгляд, целесообразно проводить также поиск продуцентов стафилококкинов и других бактериоцинов, направленно действующих на совместно существующие с *S. albicans* микроорганизмы.

Следовательно, среди изученных культур только в 2,5% удалось обнаружить продукцию бактериоциноподобных веществ, которые требуют детального изучения их физико-химических и биологических свойств, чтобы в соответствии с принятыми критериями [Tagg J.R. et al., 1976, Блинкова Л.П., 1984, 2003] определить субстанции, принадлежащие к истинным бактериоцинам.

ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ С АНТИМИКОТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ НА МУКОЦИЛИАРНЫЙ ТРАНСПОРТ СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ НОСА

Зарицкая И.С.

*Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко
Киев, Украина*

Лечение неинвазивных форм грибковых синуситов подразумевает хирургическое вмешательство с тщательным удалением патологического содержимого и грибковых элементов, после чего часто местно применяются растворы различных препаратов, оказывающих антимикотическое действие. Восстановление или улучшение функции реснитчатого эпителия слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух является одной из основных задач эффективного лечения хронического синусита. Особенно это важно в случае грибкового синусита, когда эвакуации из околоносовых пазух подлечит очень вязкая, часто «резиноподобная» слизь.

Цель нашей работы состояла в определении влияния растворов амфотерицина В и некоторых антисептиков с противогрибковым действием на транспортную функцию мерцательного эпителия (ТФМЭ).

Материалы и методы: В качестве методики изучения ТФМЭ использовали сахариновый тест. Для исследования применяли пищевой сахарин. Таблетку сахарина делили на 5 равных частей, в результате чего получали частичку размерами приблизительно 1,5x1,5x1,5 мм. Эту частичку сахарина помещали на слизистую оболочку нижней носовой раковины на расстоянии около 1 см от ее переднего конца. С помощью секундомера измеряли время, через которое сахарин транспортировался в глотку, что сопровождалось появлением вкуса сладкого в полости рта. Пациент во время теста периодически выполнял глотательные движения (одно глотание за минуту). Исследование ТФМЭ

проводилось 55 больным с грибковым синуситом на 5-й день после хирургического вмешательства по восстановлению аэрации околоносовых пазух. ТФМЭ оценивалась четырежды: до промывания, через 10, 120 и 180 мин. после промывания. Для промывания использовались растворы следующих лекарственных средств: раствор амфотерицина В в стерильной воде (100 мкг/мл), 5% та 2,5% растворы бетадина, 0,01% раствор мирамистина, 0,02% раствор декасана.

Полученные результаты и их обсуждение: Через 10 мин. после промывания раствором амфотерицина В исходные показатели ТФМЭ ухудшились, еще не восстановились через 120 мин. и несколько улучшились через 180 мин. после промывания. По-видимому, некоторое ухудшение скорости движения ресничек мерцательного эпителия можно объяснить тем, что порошок Амфотерицина В растворялся не в физиологическом растворе NaCl, а в стерильной воде для инъекций, что обусловлено требованиями инструкции для медицинского применения. Растворы бетадина разной концентрации несколько отличались по выраженности влияния на ТФМЭ: при применении 5% раствора наблюдалось более выраженное угнетение движения ресничек, которое восстанавливалось медленнее. Наряду с этим 6 из 10 пациентов, для промывания которым применяли 5% раствор бетадина, жаловались на ощущение «жжения» в полости носа во время и сразу после процедуры. При использовании 2,5% раствора бетадина, подобных жалоб не было. В группах больных, для интраназального промывания которым, применяли мирамистин и декасан в указанных концентрациях, наблюдалось улучшение исходных показателей ТФМЭ уже через 10 мин. после промывания, которые были достоверно меньшими через 120 и 180 мин в сравнении с исходными данными.

Таким образом, применение растворов выше упомянутых препаратов с противогрибковым действием не приводит к выраженному или длительному ухудшению транспортной функции мерцательного эпителия слизистой оболочки носа. Несколько ухудшается ТФМЭ непосредственно после промывания полости носа раствором амфотерицина В в стерильной воде для инъекций, но к 180 минуте исследования разница с исходными данными не является достоверной. Учитывая то, что антимикотический спектр амфотерицина В является одним из наиболее широких, особенно по отношению к плесневым грибам, можно рекомендовать применение его раствора для интраназального применения. Для промывания полости носа и околоносовых пазух целесообразно применять 2,5% раствор бетадина, а также декасан и мирамистин в указанных концентрациях.

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СПОРОВЫХ ПРОБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Мефед К.М., Осипова И.Г., Васильева Е.А.
ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича,
Кафедра Микробиологии РУДН
Москва

Первые сообщения об использовании живых культур бактерий в медицинской практике были опубликованы в 50-х годах во Франции. Настоящее время ученые называют «наступающей эпохой пробиотиков», биопрепараты широко применяются в медицине и ветеринарии для коррекции микрофлоры желудочно-кишечного тракта. На сегодняшний день в медицине различных стран применяются биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus*. Так, широкое распространение в странах Западной Европы получил пробиотик бактисубтил (фирма «Marion Merrell» /Франция/) и его аналог флонилин БС (фирма «Galenika» /Словения/). Основу этих препаратов составляет штамм *B. cereus* IP 5832 из коллекции Института Пастера (Париж). Известен так же препарат церебиоген («Xing Jian», Китай), действующее начало которого – штамм *B. cereus* DM-423. Вьетнамский препарат биосубтил в качестве активного компонента содержит штамм *B. subtilis*. Основой энтерогермина (фирма «Sanofi Winthrop», Италия) является *B. clausii*. В практику здравоохранения Российской Федерации на основе бактерий внедрены пробиотики биоспорин (*B. subtilis* 3, *B. licheniformis* 31), споробактерин (*B. subtilis* 534) и бактиспорин (*B. subtilis* 3Н). В последнее время разработаны новые пробиотики: витаспорин (*B. subtilis* 11В), биспорин (*B. subtilis* Re/3, *B. licheniformis* Re/3), субтикол (*B. subtilis* 3, *B. licheniformis* 31, *E. coli* M-17), ирилис (*B. subtilis* 07, *B. licheniformis* 09). Эти препараты-пробиотики находятся в стадии доклинического изучения.

Одной из важных сторон защитной функции пробиотической микрофлоры является антагонистическая активность в отношении патогенных и условнопатогенных микроорганизмов.

Целью исследования являлось сравнительное изучение коммерческих препаратов биоспорина, бактисубтила, энтерогермина и новых пробиотиков витаспорина, биспорина, субтикола и ирилиса в отношении грибов рода *Candida* (n=62), выделенных при дисбактериозах кишечника и дисбиозах влагалища. Антагонистическая активность определялась методом отсроченного антагонизма на среде Гаузе №2. Результаты оценивались по величине зоны угнетения роста тест-штаммов.

Сравнительный анализ проведенного эксперимента показал, что при изучении антагонистической активности пробиотиков биоспорина, витаспорина, биспорина, субтикола и ирилиса зона задержки роста культур тест-штаммов составляла от 26 до 30 мм (биоспорина – 30 мм),

тогда как у препаратов бактисубтил и энтерогермин зона задержки роста отсутствовала.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что новые пробиотические препараты витаспорин, биспорин, субтикол и ирилис характеризуются высокой антагонистической активностью в отношении грибов рода *Candida*. В аспекте проведенного исследования подчеркивается перспектива использования перечисленных новых пробиотиков в терапии кандидозной инфекции.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МИКОТОКСИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Петрова Н.В., Тремасов М.Я., Кахаберидзе В.В.
*Федеральный центр токсикологической
и радиационной безопасности
Казань*

Микотоксины оказывают существенное влияние на организм сельскохозяйственных животных и качество животноводческой продукции. В настоящее время установлено более 250 микромицетов, продуцирующих более 300 токсичных метаболитов. Отдельные из них обладают мутагенными, канцерогенными и тератогенными свойствами, а также могут оказывать гепатотоксическое, нефротоксическое, иммуносупрессивное, гематотоксическое, треморогенное и другие виды токсического воздействия.

В животноводстве микотоксинам часто не уделяют достаточное внимание из-за отсутствия четких клинических признаков интоксикации, при небольших количествах микотоксинов в кормах. Однако субтоксические количества микотоксинов очень вредны для организма животных, так как существенно снижают прирост массы тела, угнетают общую и специфическую резистентность, создавая условия для развития болезней.

Наметившаяся тенденция производства экологически чистых продуктов питания требует поиска новых типовых добавок, повышающих продуктивность животных и птицы. Одной из реальных перспектив решения этих проблем на сегодняшний день являются пробиотики — препараты, содержащие живые культуры микроорганизмов-симбионтов желудочно-кишечного тракта и их метаболиты. В последние годы получены данные об антагонистических свойствах *Bacillus spp.* на токсигенные грибы рода *Aspergillus*, *Fusarium*, *Ochraceus*. Проведенные исследования показали высокую эффективность биопрепаратов, полученных на основе культур этих бактерий, для предотвращения микотоксикозов.

Кроме того, пробиотики, в состав которых входят *Bacillus subtilis*, обладают способностью повышать неспецифические факторы иммунитета. Важнейшими свойствами некоторых штаммов бацилл является их антагонистическая активность ко многим патогенным и условно-патогенным микроорганизмам; высокая ферментативная активность, позволяющая существенно регулировать и стимулировать пищеварение; противоаллергенное и антитоксическое действия и ряд других.

Нами в ФГУ «ФЦТРБ» было изучено профилактическое действие энттероспорина (на основе *Bacillus subtilis*) при микотоксикозах поросят и птиц.

Для изучения профилактической эффективности энттероспорина при микотоксикозах были созданы 4 группы поросят по 10 голов в каждой. Животным 1–3 групп сразу после рождения (до приема молозива) внутрь задавали по 1, 3 и 5 мл препарата один раз в день в течение 30 сут; четвертая группа была контрольной, она получала физиологический раствор. Наблюдение велось при обычных условиях кормления и содержания. В рацион свиноматок добавляли афлатоксин В1 в количестве $0,3 \pm 0,05$ мг/кг, в молозиве свиноматок афлатоксин М1 выявлялся в количестве 0,005–0,01 мг/кг. Результаты оценки эффективности препарата представлены в таблице 1.

Табл. 1. Профилактическая эффективность энттероспорина при микотоксикозах поросят (n=10)

Группа животных	Доза препарата, мл	Сроки наблюдения, сут./признаки заболевания у поросят							Эффективность, %
		1	5	10	15	20	25	30	
1 опытная	1	-	-	1	1	3	3	5	50
2 опытная	3	-	-	-	1	3	2	3	70
3 опытная	5	-	-	-	-	1	2	2	80
4 контрольная	3 (физиол. р-р)	-	1	2	4	7	7	8	20

Выраженной профилактической эффективностью при микотоксикозах поросят обладала доза препарата 5 мл на животное, обеспечивающая до 80% эффекта, а в группе контроля из 10 поросят заболело восемь.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что если признаки микотоксикозов у контрольных поросят отмечались уже на 5 сут, то у поросят первой группы она проявлялась лишь на 8–10 сут и только у одного поросенка; во второй группе у 4 опытных животных признаки микотоксикозов проявлялись на 17–20 сут и она протекала в более легкой форме.

Микологические и микотоксикологические исследования проб кормов, проведенные в течение нескольких лет в хозяйствах Республики Татарстан (Кукморский, Пестречинский и Тюлячинский районы) и Марий Эл показали наличие грибов рода *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, которые являются продуцентами микотоксинов (Т-2, афлатоксин В1, стеригматоцистин, зераленон). Количество микотоксинов в рационе порослят и птиц или не превышало или превышало ПДК. В этих хозяйствах с целью профилактики микотоксикозов был использован пробиотик энтероспорин, который позволил повысить сохранность, увеличить привесы животных и птиц, по сравнению с непрофилактированными животными.

Таким образом, пробиотик энтероспорин является эффективным средством для профилактики микотоксикозов животных и птиц; микроорганизмы, входящие в состав препарата хорошо приживаются и восстанавливают функции «нормальной» микрофлоры; профилактический и лечебный эффект препарата при дисбактериозах, в особенности при токсической диспепсии, дает основание полагать, что механизм действия бактерий-антагонистов *B. subtilis* носят антитоксический характер.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛИНА

*Расторгуева Е.С., Деньсюк Н.Н., Врынчану Н.А.,
Максимов Ю.Н., Беленичев И.Ф.*

*Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
Киев, Украина*

*Запорожский медицинский университет
Запорожье, Украина*

В настоящее время отмечается увеличение количества заболеваний, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, в том числе и грибами.

Так, за период с 1992 по 1998 гг. количество микозов увеличилось с 45% до 60%. Летальность при патологиях, вызванных грибами, достигает 60%.

Увеличение удельного веса микозов в общей структуре инфекционных заболеваний связано с воздействием на организм неблагоприятных экологических факторов, внедрением новых технологий, нерациональным использованием антибиотиков широкого спектра, цитостатиков и др.

Для профилактики и лечения грибковых заболеваний используются препараты различных химических классов: пиримидины, полиены, азолы, морфолины и др. Но, несмотря на наличие значительного количества препаратов, проблема борьбы с возбудителями микозов остается актуальной. Необходим дальнейший поиск соединений, обладающих антифунгальной активностью.

Цель работы. Изучение антимикробной активности новых производных хиназолина, соединений ТХ-15, ТХ-27 и ТХ-44.

Материалы и методы. Изучение антимикробных свойств проводили по отношению к эталонным штаммам микроорганизмов: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853 и *C. albicans* NCTC 885/653. Определение антигрибковой и антибактериальной активности новых производных хиназолина проводили методом серийных разведений в жидкой соево-казеиновой питательной среде. Плотность инокулята составляла 10^6 КОЕ для бактерий и 10^6 грибных элементов на 1 мл среды.

Результаты. данные проведенных экспериментов свидетельствуют о наличии антимикробной активности у новых производных хиназолина. МПК соединения ТХ-44 в отношении *C. albicans* составляет 10 мкг/мл, в отношении *S. aureus* – 5 мкг/мл. Соединения ТХ-15 и ТХ-27 угнетают рост и размножение *C. albicans* в концентрации 1 мкг/мл. Антибактериальным действием эти вещества не обладают.

Выводы. Проведенные эксперименты свидетельствуют о необходимости проведения исследований по установлению спектра противогрибковой активности соединений ТХ-15 и ТХ-27, а также о перспективности поиска новых веществ антифунгальной направленности среди производных хиназолина.

АТАКА МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОТИВОДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕРОВ

Савельев Ю.В.¹, Робота Л.П.¹, Веселов В.Я.¹, Пархоменко Н.И.¹,
Савельева О.А.¹, Руденко А.В.², Коваль Э.З.², Ленова Л.И.²

1 – Институт химии высокомолекулярных соединений НАН
Украины, Киев

2 – Институт урологии АМН Украины

МОТИВАЦИЯ.

Микроорганизмы (грибы) – Полимеры. Атака микроорганизмов на полимеры реализуется двумя основными процессами: а) прямым воздействием – разрушением и биодegradацией полимеров; б) опосредованным воздействием – влиянием продуктов метаболизма микроорганизмов. Критерии оценки атаки микроорганизмов на полимеры: 1) биодетериорация – изменение химических или физических свойств материала под действием микроорганизмов; 2) фунгистатический эффект и 3) биодegradация. Наибольшие убытки доставляют плесневые [мицелиальные] грибы. Наиболее активными биодеструкторами являются грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Микроорганизмы (грибы) – Человек. Грибы могут вызывать заболевания человека тремя путями. 1. Прямая инфекция – преимущественно у больных с серьезными

иммунодефицитными состояниями. 2. Аллергические реакции, обусловленные вдыханием или попаданием на слизистые оболочки частиц плесневых грибов. 3. Продуцирование токсинов, основным путем поступления которых в организм является загрязненная токсикогенными грибами пища. Микроорганизмы (грибы) – Растения. Несовершенные грибы *Verticillium dahliae* и *Fusarium oxysporum* вызывают болезни сельскохозяйственных растений – ВИЛТ. При этом, микроорганизмы рода *Fusarium* являются возбудителями заболеваний человека и животных – фузариозов. В частности *Fusarium* spp. вызывают преждевременное телархе и цервикальный рак. *Fusarium eguisei* вызывают болезнь Кашин-Бека, *Fusarium moniliforme* – рак пищевода.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Созданы:

Полимеры (полиуретаны, пенополиуретаны), содержащие активные металлосодержащие добавки;

Полимеры (полиуретаны, пенополиуретаны), содержащие активные добавки органической природы;

Полимеры (полиуретаны, пенополиуретаны), содержащие активные органические и металлоорганические фрагменты в основной цепи.

После биологических испытаний полимеры полностью сохраняют свои эксплуатационные свойства (прочность, эластичность, внешний вид).

Большинство полимеров обладают фунгицидными свойствами (0 баллов согласно ГОСТ 9.048...9.053-75 (91)/ ISO 846:1997(E)). Время жизнедеятельности микроорганизмов на поверхности полимеров ограничено 3–10 сутками. Некоторые полимеры обладают как антимикотическими, так и антибактериальными свойствами.

НАЗНАЧЕНИЕ

Полимеры являются базовой моделью для создания многофункциональных материалов: защитных покрытий, получаемых из органических растворов или водных дисперсий фиксируемых на разных типах поверхностей (в т.ч. самоклеющиеся), искусственной кожи, и так далее.

ФОТОФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТИОННЫХ ФТАЛОЦИАНИНОВ

Страховская М.Г.¹, Шумарина А.О.¹, Негримовский В.М.², Кузьмин С.Г.²

1 – Биологический ф-т МГУ им. М.В. Ломоносова

2 – ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Разработка эффективных способов борьбы с микробными заражениями является одной из важнейших задач микробиологии и медицины. Особенно остро этот вопрос стоит в последнее время в связи с ростом приобретенной резистентности бактериальных и грибковых патогенов

к химиотерапии. В этой связи в 90-е годы возобновились исследования в области фотосенсибилизации микроорганизмов. Метод, основанный на инактивации вирусов, бактерий, грибов и простейших активными формами кислорода, которые генерируют красители (фотосенсибилизаторы, ФС) в фотовозбужденном состоянии, получил название анти-микробной фотодинамической терапии.

Ранее мы обнаружили фотодинамическую инактивацию дрожжевых грибов *Candida albicans* и *C. guilliermondii* в присутствии хлориновых ФС (Страховская с соавт., Патент РФ 2230110). Однако хлорины, будучи анионными соединениями, проявляют низкую фотобактерицидную активность, особенно в отношении грам-отрицательных бактерий. В то же время наибольший интерес должны представлять ФС с широким спектром антимикробного действия. С использованием биолюминесцентного бактериального теста нами был отобран ряд высокоэффективных в фотосенсибилизации бактерий катионных производных фталоцианинов. Целью настоящей работы являлось изучение фотофунгицидной активности этих соединений.

Эксперименты проводили на дрожжевых грибах *C. guilliermondii*. После 15 мин инкубации с ФС в концентрациях до 2,0 мкМ (3,2 мкг/мл) в отсутствие освещения суспензию клеток облучали в течение 10–30 сек красным светом источника ЭКОМП (со светофильтром КС-11). Оценку результатов инактивации проводили, определяя колониеобразующую способность дрожжевых грибов, подвергнутых действию ФС и излучения, по сравнению с контрольными необработанными культурами или культурами, обработанными только ФС или только излучением.

Установлено, что однократное сочетанное воздействие нетоксичных в темноте микромолярных концентраций катионных производных фталоцианинов и низкоинтенсивного безвредного электромагнитного излучения красного диапазона позволяет достичь в системе *in vitro* высоких уровней инактивации (до 100%) *C. guilliermondii*. Величина минимальной летальной концентрации для наиболее активных производных составляет 0,4–0,8 мкг/мл. Эффективные концентрации октакатионных фталоцианинов на порядок ниже таковых для хлориновых ФС.

В экспериментах *in vivo* на модели кератокандидоза кроликов получены первые результаты, свидетельствующие о перспективности применения октакатионных фталоцианинов для фотодинамической терапии поверхностных грибковых инфекций.

МЕТАБОЛИЗМ ХИТИНА У МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ КАК МИШЕНЬ ДЛЯ БОРЬБЫ С МИКОЗАМИ

Феофилова Е.П.

*Институт микробиологии РАН им. С.Н. Виноградского
Москва*

Цель доклада — изложить современные представления и собственные данные о биосинтезе хитина у мицелиальных грибов, о соединениях, ингибирующих этот процесс, и обсудить возможность их использования для создания антигрибных препаратов.

Хитин — (1-4)- β -связанный гомополимер N-ацетил-D-глюкозамина, широко распространен в природе и синтезируется грибами, водорослями, простейшими, моллюсками, гидроидами

насекомыми и ракообразными. Индивидуальные полимерные цепи в хитине напоминают по форме спираль, где каждый сахарный остаток вывернут по отношению к соседнему, что приводит к их стабилизации в виде прочной ленты при 03-N.....05 и 06-N.....07 водородных связей. Наиболее общей формой хитина в природе является α -хитин, исключение составляет хитин диатомовых водорослей, где этот аминополисахарид находится в форме β -хитина.

В синтезе хитина участвует только один фермент — хитинсинтетаза (или хитинсинтаза, ХС, Е.С.2.4.1.16), субстратом которой служит сахарный нуклеотид — уридиндифосфо-N-ацетил-D-глюкозамин, который активируется дивалентными катионами. Хитинсинтетаза может находиться в зимогенной форме и локализуется в специальных частицах — хитосомах. Локализация и движение частиц, участвующих в синтезе хитина — микровезикул, контролируется специальным Центром (VSC), и от скорости доставки к месту синтеза хитина микровезикул зависит морфология грибной клетки.

Мицелиальные грибы отличаются поляризованным ростом, т.е. активные процессы синтеза хитина и клеточной стенки протекают на самом кончике гифы — ее апексе. Именно здесь осуществляется первый этап синтеза клеточной стенки и создается первичная клеточная стенка. Вторичная клеточная стенка синтезируется в дистальной части гифы путем отложения уже ранее синтезированного стеночного материала.

Хитин деградируется на мономеры под действием двух ферментов — хитиназы (3.2.1.14), гидролизующей полимеры и олигомеры N-ацетил-D-глюкозамина до N-N-диацилхитобиоз, и N-ацетил- β -глюкозоамида (Е.С. 3.2.1.30), конечным продуктом действия которой является N-ацетил-D-глюкозамин. Хитиназы, согласно современным данным, участвуют не только в лизисе клеточной стенки грибов, но и в ее построении, например, в создании степени кристалличности цепи α -хи-

тина, придавая, таким образом, конечную форму клеточной стенки, характерной для определенных видов грибов. Хитинсинтетаза участвует также в связывании хитина с другими полисахаридами клеточной стенки путем тангленкозилазной активности.

Наиболее типичными ингибиторами хитинсинтетазы являются нуклеозидди- и трипептидные антибиотики – полиоксины и никкомицины. Полиоксины получают из почвенных микроорганизмов *Streptomyces sasaoi*, никкомицины из *Streptomyces tendae*. Оба ингибитора действуют, заменяя в биосинтетическом пути образования хитина уридиндифосфоацетилглюкозамин, и тем самым, нарушая последовательность биосинтетических реакций, приводят к остановке синтеза хитина. Согласно литературным и нашим данным, добавление этих ингибиторов приводит к значительным морфологическим изменениям гиф грибов и их быстрому лизису. Особо следует подчеркнуть, что эти соединения, например, полиоксин D действуют в очень низких концентрациях (10–12,5 мкг/мл). На синтез хитина влияют и аллозамидины – псевдотрисахариды, содержащие в качестве дисахарида N-ацетил-D-глюкозамин, связанный с новыми циклическими аминокислотами, названными аллозамизолинами.

Описанные выше ингибиторы синтеза хитина действуют на грибы, протозоа, насекомых и беспозвоночных, причем особенно эффективно на мицелиальные грибы. Учитывая, что млекопитающие не синтезируют хитин, а описанные выше соединения являются мощными ингибиторами его синтеза и приводят к быстрому лизису клеток, можно считать, что никкомицины, полиоксины и аллозамидины могут рассматриваться как активные хемотерапевтические агенты для борьбы с патогенными грибами, насекомыми и протозоа.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИМИКОТИКА ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА И ПРЕПАРАТОВ МИФУНГАР И НИЗОРАЛ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Шилова И.Б., Пушкина Т.В., Гуськова Т.А.
ФГУП Центр по химии лекарственных средств (ЦХЛС-ВНИХФИ)
Москва

Цель: сравнительное изучение химиотерапевтической активности нового оригинального антимикотика, производного тиазолидин-2,4-диона, и противогрибковых препаратов мифунгар и низорал в опытах *in vivo* на модели микроспории морских свинок при местном применении.

Методы: исследования проводили на морских свинках – альбиносах, самцах, массой 200–300 грамм. Для заражения использовали зоопатогенный штамм *Microsporium canis*, типичный по своим культуральным и биохимическим свойствам. Для прививки брали фрагмент 10–12-дневной культуры возбудителя вместе с агаром Сабуро и пораженные волосы. Лечение животных проводили в течение 21 дня. Эффективность изучали на фоне развившегося инфекционного процесса и оценивали по следующим параметрам: 1) специфическое свечение в лучах люминесцентной лампы Вуда (при наличии возбудителя); 2) микроскопическое исследование материала; 3) время восстановления шерстного покрова; 4) местно-раздражающее действие.

Результаты: установлено, что производное тиазолидин-2,4-диона как и мифунгар обладают высокой химиотерапевтической эффективностью на модели микроспории морских свинок. Эффективность соединения при местном применении в течение 21 дня достигала 70%, активность мифунгара – 65%. Эффективность препарата низорал была несколько ниже и составила 40%. Исследуемая мазь не оказывает раздражающего действия на кожу животных. При проведении 21 дневного курса лечения у 40% животных в группе зарегистрирована полная санация очагов поражения и клиническое выздоровление.

Выводы: лекарственная форма нового антимикотика производного тиазолидин-2,4-диона в виде мази обладает выраженной химиотерапевтической эффективностью сопоставимой с эффективностью мифунгара и превосходит активность низорала при местном применении на модели микроспории морских свинок. Препарат не оказывает местного раздражающего действия. Препарат проходит клинические исследования на лечебных базах г. Москвы.

Глава 6

МИКОЗЫ: ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ СРЕДСТВАМ

LABORATORY EVALUATION OF SENSITIVITY OF *CANDIDA*' STRAINS ON SELECTED ANTIFUNGAL PREPARATIONS

Jaworska-Zaremba M., Dąbkowska M., Swoboda-Kopeć E., Błachnio S.,
Mierzwińska-Nastalska E., Łuczak M.

Department of prosthetic dentistry, department of medical microbiology,
Warsaw medical university
Варшава, Польша

The living conditions as well as the option of refunding the costs of medication as a part of contracts with the National Health Service are the reasons of yet increasing number of denture wearers. *Candida*-associated denture stomatitis are recurrent and unwanted effect of prosthetic dentures' use.

Data available so far have proved the occurrence of denture stomatitis in 11–67% of denture wearers.

Three fundamental reasons of the occurrence of denture stomatitis may be classified as follows: mechanical injury, prosthesis plaque and mycotic infections. Many authors used to deem mycotic infections (*C. albicans* in particular) a determinant of changes in the prosthetic foundation.

Local therapy of denture stomatitis as prosthetic medication, surgical treatment, pharmacological medication and combined prosthetic and pharmacological medication depends on the stage of denture stomatitis (acc. to Newton's classification). Favourable conditions which are presented under denture plate (saliva, increased temperature, humidity, reduced access of the oxygen, remaining food particles) have a huge influence for the development of bacteria and fungi as well as frequent reinfections. At the present, it seems important to find out more effective pharmacological medication of treatment of denture stomatitis. At the same time prevention from the reinfections become a real problem for denture wearers.

Aim.

The aim of the study was determine the degree of efficiency of selected antimycotic preparations as Fluconazol, Itraconazol, Citrosept. Fluconazol, Itraconazol are known and used medications in local and systemic treatment of mycotic infections. Citrosept is an extract from seeds of grape fruit (*Citrus Paradisi*) contains flavonoids.

Materials and methods.

Materials for the study consists of : 19 strains of *Candida*, *C. albicans* yest-selective Casiton medium, 60 acrylic discs made of Softerex and saturated with Fluconazol, Itraconazol and Citrosept. The strains of *Candida* were obtained from patients by swabbing the oral mucosa and compared with standard strain. The swabes were plated on 19 sterile Petri dishes with Casiton medium. The discs were placed on Casiton and incubated for 48 hours at 30 degrees C to detect the growth of *Candida* species. The inhibition zone

of *Candida*' growth in case of Fluconazol, Itraconazol and Citrosept was evaluated after 24, 48 hours by using compasses. The width of inhibition zones of *Candida*' colonies growth were documented using standard color photographs at 24 and 48 h.

Results.

- the efficiency of Fluconazol was 73,68 %
- the efficiency of Itraconazol was 31,57%
- the efficiency of Citrosept was 100%.

Conclusions:

- Fluconazol introduced into the Soferec can be consider as drugs for medication of *Candida*-associated denture stomatitis.
 - Citrosept is an efficient and cost-effective antifungal agent and may be an alternative solution to the treatment with polyenes.
 - efficiency of Itraconazol used accordingly to described methods is limited.
- Further researches establishing optimum therapeutical dose of Itraconazol in local therapy of denture stomatitis should be led.

References

1. Budtz-Jorgensen E.: The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. Scand J Dent Res 1974;82:151-90
2. Baillie GS, Douglas LJ.: Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. J Antimicrob Chemother 2000;54:49-79.
3. Wynn RL, Jabra-Rizk MA, Meiller TF.: Fungal drug resistance, biofilms, and new antifungals. Gen Dent 2003;51:94-8

RESISTANCE TO ITRACONAZOLE IN CLINICAL ISOLATES OF *CANDIDA GLABRATA* IN VITRO

Swoboda-Kopeć E., Dąbkowska M., Netsvyetayeva I., Blachnio S., Jaworska-Zaremba M., Stelmach E., Łuczak M.

*Microbiology Laboratory, Warsaw Central Clinical Hospital
Department of Medical Microbiology, Department of Prosthetic Dentistry,
Medical University of Warsaw
Варшава, Польша*

Aim of the study.

Analysis of susceptibility of *C. glabrata* strains isolated from surgical patients hospitalized in the Central Clinical Hospital (CCH) in Warsaw.

Material and methods.

The study comprised surgical patients hospitalized in the CCH (1200 beds) in 2004.

Standard mycological cultures were done on the following clinical samples: peritoneal swabs taken during surgery, peritoneal fluid, blood, bronchial washings, bile, drains, catheters, pus and urine.

Specimens were inoculated on Sabourauda ground supplemented with gentamycine and chloramphenicol (Becton Dickinson). Isolated tribes were identified by using CHROMagar *Candida* ground and automatic test ID32C (bioMerieux).

Susceptibility to antifungal agents was tested by E-tests (AB Biodisk). Sensitivity of strains on amfoterycine B, itraconazol, flukonazol, voriconazol were examined by using Etest (AB Biodisk).

Results:

Out of 1652 specimens yielding fungal growth, 1722 fungal strains were isolated.

There were 664 fungal isolates cultured from surgical patients. Among them there were 188 strains of *C. glabrata*. Resistance to itraconazole was detected in 62 strains (33%) of *C. glabrata*. The majority of itraconazole-resistant isolates were cultured from peritoneum – 25 (40.3%) and blood cultures – 13 (21%). Resistance to itraconazole was detected in 62 strains (33%) of *C. glabrata*.

Conclusions:

1. Surgical patients are at risk for infections caused by *C. glabrata*.
2. An emergence of itraconazole-resistant strains of *C. glabrata* is observed in the analysed group of patients.

Supported by Polish State Committee for Scientific Research (grant No. 3PO5A 028 25)

Bibliography

1. Baran E. Outline of Medical mycology, Volumed, Wrocław, 1998.
2. Dzierżanowska D. Perspectives of invasive fungal infection therapy. Standards in Medicine, 2003, 1 (5): 768-775.
3. Mardani M, Hanna HA, Hachem, Abbas J, Girgway E, Raad II. *Candida glabrata* versus *Candida albicans*. Fungemia in Immunocompromised Patients (pts): a Matched-Pair Analysis. Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother. 1999 Sep 26-29; 39: 560 (abstract no. 969).
4. Łukaszuk C, Krajewska-Kułak E, Niczyporuk W, Krawczuk-Rybak M. Five-year observations of susceptibility of the yeast-like fungi strains in cancer patients, Mikol. Lek. 2000, 7 (4): 209-215
5. Garczewska B, Dzierżanowska D. Dignostic approach to invasive fungal infections, Infections 2004, 4 (7): 1-13
6. Stephenson J. Can a Common Medical Practice Transform *Candida* Infections From Benign to Deadly?, Jama, 2002, 3 (4):169-170
7. Safdar A, Chaturvedi V, Koll BS, Larone DH, Perlin DS, Armstrong D. Prospective, multicenter surveillance study of *Candida glabrata*: fluconazole and itraconazole susceptibility profiles in bloodstream, invasive, and colonizing strains and differences between isolates from three urban teaching hospitals in New York City (*Candida* Susceptibility Trends Study, 1998 to 1999). Antimicrob Agents Chemother. 2002 Oct;46(10):3268-72.

8. Mucoz Carrillo A-J. *In vitro* resistance to fluconazole and itraconazole in clinical isolates of *Candida* spp and *Cryptococcus neoformans*. Rev Iberoam Micol 1997; 14: 50-54

9. Marcelo D. Martins, MD and John H. Rex, MD Antifungal Drug Resistance: A Focus on *Candida* Division of Infectious Diseases University of Texas Medical School Houston, Texas. Fungal Infections, 1997, 1 (3).

10. Winston, Drew J. 1; Busuttill, Ronald W. Randomized controlled trial of oral itraconazole solution versus intravenous/oral fluconazole for prevention of fungal infections in liver transplant recipients. Transplantation. 2002, 74(5):688-695.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФЛУКОНАЗОЛУ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

*Васильева Н.В., Выборнова И.В., Богомолова Т.С., Чилина Г.А.,
Михайлова М.А., Босак И.А.*

*НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СПб МАПО
Санкт-Петербург*

Флуконазол является одним из основных антимикотических препаратов, применяемых для лечения криптококкоза. Целью работы было определить частоту резистентных штаммов *Cryptococcus neoformans*, циркулирующих в России, и биологические особенности изолятов со сниженной чувствительностью к флуконазолу.

Использовали диско-диффузионный метод CLSI M44A. Диски, содержащие 25 мкг флуконазола, были предоставлены фирмой Pfizer Inc. Диаметр зон подавления роста вокруг дисков измеряли с помощью микробиологического анализатора-приставки «BIOMIC Vision» по компьютерной программе.

Вирулентность штаммов *C. neoformans* определяли на модели внутривенного заражения белых беспородных мышей. Фенолоксидазную активность *C. neoformans* оценивали по образованию меланина при выращивании на агаре с L-дигидроксифенилаланином (L-ДОФА).

Исследовано 29 клинических изолятов *C. neoformans*, полученных от 22 больных криптококкозом в период с 1990 по 2004 г.г. Из них 28 штаммов были выделены в Санкт-Петербурге и 1 штамм в Москве.

В соответствии с зонами подавления роста вокруг дисков с флуконазолом изоляты были разделены на 3 группы: 1) чувствительные – 23 штамма (79,4%); 2) умеренно-чувствительные – 3 штамма (10,3%); 3) резистентные – 3 штамма (10,3%).

Выявленная частота резистентных и умеренно-чувствительных штаммов превышала таковую для Европы, но была близкой к данным, полученным в США.

Все 6 штаммов *S. neoformans* со сниженной чувствительностью к флуконазолу были сильно вирулентными для мышей. Средние летальные дозы этих штаммов составляли от 140 до 2000 клеток/мышь, тогда как у наименее вирулентных изолятов *S. neoformans* LD₅₀ достигала 10 млн. клеток гриба на мышь. При сравнении групп сильно и слабо вирулентных штаммов по чувствительности к флуконазолу получены статистически значимые различия ($p < 0,05$). Сильно вирулентные штаммы *S. neoformans* были менее чувствительны к флуконазолу, чем слабо вирулентные изоляты.

При сопоставлении чувствительности клинических изолятов к флуконазолу и их способности к меланинообразованию при 37°C выявлена взаимосвязь между уровнем продукции меланина и чувствительностью к флуконазолу ($p < 0,05$). Штаммы со сниженной чувствительностью к флуконазолу активно продуцировали меланин при выращивании на агаре с L-ДОФА при 37° С в отличие от других изолятов, фенолоксидазная активность которых была репрессирована повышенной температурой.

Клинические изоляты *Cryptococcus neoformans*, которые проявили умеренную чувствительность или резистентность к флуконазолу, были наиболее вирулентными. Пониженная чувствительность к флуконазолу была связана со способностью штамма гриба активно продуцировать меланин при 37°C.

ИЗМЕНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ В ПРИСУТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Войчук С.И., Громозова Е.Н.

*Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины
МСП*

Киев, Украина

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам является одним из основных этапов многих биологических, фармакологических и медицинских исследований. Проведение такого рода анализов требует максимально стандартизированных условий для получения достоверных результатов. Согласно последним тенденциям в области электромагнитной биологии есть основания предполагать, что электромагнитные поля, генерируемые электроприборами, находящимися в лаборатории, могут повлиять на результаты проводимых экспериментов. В этом аспекте особое внимание уделяется компью-

терным мониторам, которые являются источником широкого спектра излучений (радиочастотного, инфракрасного, оптического, ультрафиолетового и рентгеновского). Современные мониторы разрабатываются и создаются согласно целому ряду правил для обеспечения электромагнитной безопасности пользователя, однако во многих экспериментальных работах отмечено негативное биологическое действие, причиной которого называют излучения мониторов.

Нами проведен ряд исследований с целью выявления возможного воздействия излучений генерируемых монитором компьютера на чувствительность микроорганизмов к антибиотикам. Был выбран монитор с электронно-лучевой трубкой и диагональю экрана 17". Биологическим объектом служили дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-517, которые предварительно выращивали на агаризованной питательной среде в течение 24 ч для достижения стационарной фазы роста, после чего смывали стерильной дистиллированной водой. Полученную суспензию в равных количествах вносили в стеклянные флаконы, часть из которых помещали в металлические коробки для экранирования излучений и располагали напротив центра монитора на расстоянии 4, 40 и 250 см. Отбор проб для анализа проводили через 3, 6 и 24 часа. Антибиотик нистатин в концентрации 15 мкг/мл вносили сразу после облучения культуры клеток. Действие излучений монитора оценивали через 48 часов по количеству образованных колоний.

Согласно полученным данным в отсутствие нистатина количество образовавшихся колоний у облученных образцов не отличалось от контрольных показателей, что свидетельствует о том, что основные жизненно важные внутриклеточные процессы не повреждены. В то же время, облученные клетки дрожжей оказались гораздо более чувствительными к присутствию нистатина. Эффект зависел от расстояния до монитора и продолжительности облучения. Так в контроле выживаемость составляла примерно 30 % ($P < 0,05$), а в облученных образцах через 3 часа – 4%, 15% и 25% на расстоянии 4, 40 и 250 см, соответственно, через 6 часов – 6%, 17% и 21%, а через 24 часа – 8%, 19% и 39%. Видно, что жизнеспособность со временем повышается – это может быть связано с адаптацией клеток к условиям, в которых они находятся.

Таким образом, полученные данные показывают, что излучения компьютерных мониторов влияют на чувствительность дрожжей к нистатину. Не исключено, что другие микроорганизмы также окажутся чувствительными к воздействию со стороны электромагнитных полей генерируемых различными электроприборами. Поэтому необходимо учитывать данный фактор в исследованиях для избежания возможных ошибок.

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОКЦИДИОИДОМИКОЗА К КЕТОКОНАЗОЛУ

*Гришина М.А., Лесовой В.С., Липницкий А.В., Ткаченко Г.А.,
Антонов В.А.*

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

Кокцидиоидомикоз относится к редким эндемичным особо опасным микозам. Ареал распространения инфекции расположен в странах Западного полушария. В России достоверных случаев кокцидиоидомикоза не зарегистрировано. Спорадические вспышки в неэндемичных районах могут быть вызваны артрспорами гриба, находящимися в импортируемом инфицированном сырье (преимущественно сельскохозяйственная продукция). Описаны случаи заболевания туристов при посещении эндемичных территорий.

Клинические проявления этого микоза многообразны. Лечение различных форм кокцидиоидомикоза длительное и требует использования различных форм антимикотиков, перечень которых ограничен. Наиболее эффективным из них является, амфотерицин В, который ввиду высокой токсичности применяется только по жизненным показаниям при постоянном контроле функции печени и почек. Липосомальная («Амбизом») и коллоидная («Абелсет») формы амфотерицина обладают меньшей токсичностью, но их применение ограничивают высокая стоимость и парентеральный путь введения. В клинической практике нередко применяют препараты азолового ряда, в частности кетоконазол, как наиболее дешевый антимикотик, применяемый перорально. Однако в литературе имеются сообщения о рецидивах заболевания при использовании данного препарата [Stevens D.A., 1995].

Целью работы явилось определение устойчивости возбудителей кокцидиоидомикоза к кетоконазолу.

В работе были исследованы 25 штаммов *Coccidioides* spp. из коллекции Волгоградского научно-исследовательского противочумного института. По предварительным нашим данным, полученным на основе различных генетических методов, 11 из них относились к виду *Coccidioides immitis*, а 14 – к *Coccidioides posadasii*.

Учитывая, что максимально достижимая концентрация препарата в плазме крови составляет 3,5 мкг/мл, использовали серийные разведения кетоконазола на среде RPMI 1640 в концентрациях 1, 2, 4, 8, 16 мкг/мл. Посевная доза составляла 1×10^5 артрспор/мл. Посевы инкубировали при 28 °С до появления выраженного роста в контрольных пробах на среде RPMI без кетоконазола (30 сут). Устойчивыми к препарату считали те штаммы, рост которых наблюдали при концентрациях антимикотика 4 мкг/мл и выше.

В результате исследования выявлено, что 15 из 25 изученных штаммов *Coccidioides* spp. проявили устойчивость к кетоконазолу (60%).

При этом среди представителей *C. immitis* выявлено 5 штаммов (45,5%) резистентных к кетоконазолу, а среди *C. posadasii* – 10 (71,5%).

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что значительная часть штаммов возбудителей кокцидиоидомикоза, особенно *C. posadasii*, устойчивы к кетоконазолу. Можно предположить, что высокий процент рецидивов заболевания при назначении антимикотиков азолового ряда обусловлен резистентностью штаммов к химиотерапевтическим препаратам. По этой причине в ходе лечения целесообразно определение чувствительности выделенной культуры возбудителей кокцидиоидомикоза к различным антифунгальным препаратам.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛИЙ И ВЛАГАЛИЩА

Захарова Е.А., Шамбилова Н.А., Азизов И.С.

*Карагандинская государственная медицинская академия
Казахстан*

Широкое распространение кандидозов в амбулаторной практике в последние годы актуализирует вопросы, связанные с применением антимикотиков в лечении инфекций, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida*. В тоже время, на современном этапе назначение противогрибковых препаратов проводится на основании априорных данных о чувствительности, без предварительного лабораторного обоснования. При этом, проводимая терапия антимикотиками не приводит к ожидаемым клиническим эффектам, что ставит под сомнение ее эффективность.

Цель работы: сравнительная оценка чувствительности клинических штаммов дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выделенных из фекалий и влагалища, к противогрибковым препаратам.

Материалы и методы исследования. Проведено определение чувствительности к 6 противогрибковым препаратам 85 клинических штаммов грибов рода *Candida*, выделенных за период январь – декабрь 2005 года. Из них 72 штамма, выделенных из фекалий и 13 влагалищных изолятов. Чувствительность к антимикотикам определялась методом дисков к следующим препаратам: нистатину (NYS100U/диск), амфотерицину В (AMB100U/диск), клотримазолу (CTR10мкг/диск), кетоконазолу (KET10мкг/диск), итраконазолу (ITR10мкг/диск) и флуконазолу (FLU10мкг/диск). Оценка проводилась в соответствии с критериями Neo-Sensitab (Rosco).

Статистическая обработка проводилась с помощью программ WhoNet 5.1 (www.who.org).

Результаты и обсуждение. Чувствительность кишечных изолятов к полиенам составила: к нистатину — 25%, к амфотерицину В — 7% и существенно отличалась от чувствительности влагалищных изолятов к этим же препаратам: к нистатину — 46%, к амфотерицину В — 15%. Чувствительность к имидазолам кишечных изолятов составила: к клотримазолу — 76,4%, к кетоконазолу — 23,8%; влагалищные изоляты: к клотримазолу — 84,6%, к кетоконазолу — 41,6%. Чувствительность штаммов, выделенных из фекалий больных с кандидозом кишечника составила: флуконазолу — 6%, к итраконазолу — 3,6%; процент чувствительных штаммов, выделенных от больных с влагалищным кандидозом составил: к флуконазолу — 18,2%, к итраконазолу у всех выделенных штаммов чувствительность отсутствовала. Таким образом, анализ результатов определения чувствительности штаммов *Candida* sp. не выявил достоверных различий в группах гинекологических и кишечных изолятов. При этом доля чувствительных изолятов к нистатину, выделенных из фекалий, была ниже, чем при влагалищных кандидозах.

Нередко, применение антибактериальных препаратов, при кишечных инфекциях, проводится «под прикрытием» антимикотиков, при этом применение противогрибковых препаратов не несет рационального характера (неадекватные дозы, сокращенные сроки курсового лечения и т.п.). Это может служить причиной селекции резистентных штаммов и их широкого распространения. Выявленный высокий процент устойчивых штаммов ко всем изученным антимикотикам, на наш взгляд, связан с широким, бесконтрольным применением этих препаратов населением. В Казахстане до сих пор не реализована система рецептурного отпуска антимикробных препаратов, что создает условия для свободного их оборота среди населения. Сложившаяся ситуация требует разработки и внедрения системы мероприятий, направленных на повышение рациональности применения противогрибковых препаратов.

Выводы: Преобладающая масса клинических изолятов дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выделенных из различных биотопов (толстый кишечник, влагалище), характеризуется полирезистентностью к основным противогрибковым препаратам, что указывает на нерациональное применение этих препаратов.

АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *CANDIDA ALBICANS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ДИАРЕЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКСТАН

Норбоев Н.М., Ибадова Г.А.

*НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний
МЗ РУз, Ташкентский институт усовершенствования врачей
Ташкент, Узбекистан*

В связи с увеличением значимости кишечного кандидоза в этиологии острых диарей (ОД) в Республике Узбекистан было проведено исследование по изучению чувствительности *Candida albicans*, выделенных от больных ОД к наиболее часто применяемым в Узбекистане противогрибковым препаратам. Исследование проведено с культурами *Candida albicans*, выделенными от 76 больных ОД с использованием диффузно-дискового метода, с препаратами Котримазол, Амфотерицин В, Нистатин, Дифлюкан.

В результате исследования было установлено, что *Candida albicans* в отношении препарата Котримазол высокочувствительна в 11 случаях (14,5%), чувствительна в 16 случаях (21%), умеренно чувствительна в 20 случаях (26,3%) и резистентная в 29 случаях (38,2%); относительно препарата Амфотерицин В – 13 (17,1%), 11 (14,5%), 18 (23,68%) и 34 (44,73%) соответственно; относительно препарата Нистатин – 13 (17,1%), 8 (10,5%), 21 (27,6%) и 34 (44,73%) соответственно; относительно препарата Дифлюкан – 8 (10,52%), 7 (9,21%), 30 (39,47) и 31 (40,78) соответственно.

Исходя из полученных данных можно заключить, что *Candida albicans*, являющаяся возбудителем острых диарей у больных в Республике Узбекистан, обладает низкой чувствительностью с современным антигрибковым препаратом и в 40–45% случаев полирезистентна к ним.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФЛУКОНАЗОЛУ И ВОРИКОНАЗОЛУ ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММОВ *CANDIDA SPP.* В ДВУХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ СТАЦИОНАРАХ МОСКВЫ

Птицин С.А.¹, Клясова Г.А.¹, Масчан А.А.²

1 – Гематологический Научный Центр РАМН

2 – НИИ Детской Гематологии

Москва

Цель исследования. Изучить чувствительность госпитальных штаммов грибов рода *Candida* к флуконазолу и вориконазолу.

Методы.

Исследование чувствительности *Candida spp.* проводилось диско-диффузионным методом в соответствии с критериями NCCLS M44-A на агаре Мюллер–Хинтон с добавлением глюкозы из расчета 0,4 г/мл и метиленового синего из расчета 5 г/мл. Использовались диски производства компании Becton Dickinson (США), содержащие 25 мкг флуконазола и 1 мкг вориконазола.

Результаты учитывались и анализировались при помощи автоматической системы BIOMIC® Vision System (Giles Scientific Inc.). Для оценки зон подавления роста к исследуемым препаратам использовались следующие критерии:

для флуконазола – чувствительный (Ч), при зоне задержки роста <14 мм, чувствительный, дозо-зависимый (ЧДЗ), при зоне задержки роста 15–18 мм, устойчивый (У), при зоне задержки роста >19мм;

для вориконазола – чувствительный при зоне задержки роста <13 мм, чувствительный дозо-зависимый, при зоне задержки роста 14–16 мм, устойчивый, при зоне задержки роста >17 мм.

Результаты.

За период с июля 2003 по декабрь 2005 гг. было проведено определение чувствительности 1152 штаммов *Candida spp.* (1004 штаммов из ГНЦ РАМН и 148 из НИИ ДГ), выделенных из крови (21), спинно-мозговой (1) и перитонеальной (5) жидкостей, мочи (63), браш-биоптатов пищевода (19), биоптатов органов (5), ран (11), жидкости бронхоальвеолярного лаважа (54), мокроты (6), плевральной жидкости (2), половых органов (12), зева (611) и кала (342).

Данные по чувствительности представлены в таблице:

Вид <i>Candida</i>	N	Флуконазол			Вориконазол		
		Ч.	ЧДЗ	У	Ч	ЧДЗ	У
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<i>C. albicans</i>	775	770 (99,4)	1 (0,1)	4 (0,5)	772 (99,6)	0	3 (0,4)
<i>C. glabrata</i>	132	90 (68,4)	27 (20,4)	15 (11,4)	116 (87,9)	2 (1,5)	14 (10,6)
<i>C. krusei</i>	68	3 (4,4)	17 (25)	48 (70,6)	61 (90)	4 (6)	3 (4)
<i>C. kefyr</i>	63	63 (100)	0	0	63 (100)	0	0
<i>C. tropicalis</i>	30	30 (100)	0	0	30 (100)	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	30	29 (96,7)	0	1 (3,3)	30 (100)	0	0
<i>C. norvegensis</i>	25	14 (56)	9 (36)	2 (8)	22 (88)	2 (8)	1 (4)
<i>C. lusitaniae</i>	15	14 (93,3)	0	1 (6,7)	14 (93)	0	1 (7)
<i>C. guilliermondii</i>	8	6 (75)	0	2 (25)	7 (87,5)	0	1 (12,5)
<i>C. dubliniensis</i>	2	2	0	0	2	0	0
<i>C. famata</i>	1	1	0	0	1	0	0
<i>C. inconspicua</i>	1	1	0	0	1	0	0
<i>C. intermedia</i>	1	1	0	0	1	0	0
<i>C. pelliculosa</i>	1	1	0	0	1	0	0
Всего	1152	1025 (89)	54 (5)	73 (6)	1121 (97,3)	9 (0,8)	22 (1,9)

Заключение. В результате исследования выявлено, что большинство протестированных изолятов чувствительны к обоим препаратам. Наименее выраженной чувствительностью к флуконазолу обладают *C. krusei* (4% чувствительных штаммов), *C. norvegensis* (56% чувствительных штаммов) и *C. glabrata* (68% чувствительных штаммов). Следует отметить высокую антимикотическую активность вориконазола в отношении всех исследованных культур *Candida spp.* (97,3% чувствительных штаммов), в том числе и штаммов *C. krusei* (90% чувствительных штаммов) и *C. glabrata* (87,9% чувствительных штаммов).

СОПОСТАВЛЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *CANDIDA SPP.* К ФЛУКОНАЗОЛУ: ДИСКО- ДИФФУЗИОННОГО И ТЕСТ-СИСТЕМ «FUNGITEST»

Птицин С.А., Клясова Г.А.
Гематологический Научный Центр РАМН
Москва

Цель исследования: сравнить результаты определения чувствительности одних и тех же штаммов *Candida spp.* к флуконазолу двумя методами.

Материалы и методы.

Чувствительность *Candida spp.* определяли диско-диффузионным методом, согласно критериям NCCLS M44-A на агаре Мюллер-Хинтон с добавлением глюкозы из расчета 0,4 г/мл и метиленового синего из расчета 5 г/мл. Зоны задержки роста учитывались и анализировались при помощи автоматической системы BIOMIC® Vision System (Giles Scientific Inc.). Параллельно исследовали чувствительность тех же штаммов коммерческими тест-системами “Fungitest” (Bio-Rad, США).

Результаты.

Всего было протестировано 190 штаммов дрожжевых грибов. Результаты чувствительности двумя методами даны в таблице.

Показатель	Диско-диффузионный метод	Тест-системы “Fungitest”	% совпадений
Чувствительные, n	163	150	92
Чувствительный, дозо-зависимый, n	13	21	62
Устойчивые, n	14	19	74

При исследованиями двумя методиками, расхождения по чувствительности преобладали среди *Candida non-albicans*, где доминировали *C. glabrata.*, и выявлены только у одного штамма *C. albicans*.

Заключение. В сравнении со стандартным диско-диффузионным методом определения чувствительности *Candida spp.* к флуконазолу, у коммерческих тест-систем могут выявляться несоответствия в результатах.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ *IN* *VITRO* ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ ТЕРБИНАФИНА

Федотов В.П., Светашов О.М., Коваленко Ю.Б.

*Днепропетровская государственная медицинская академия
Днепропетровск, Украина*

Проведена сравнительная характеристика препаратов различных фармацевтических фирм — ламизил, экзифин и тербизил, а также мягкие формы этих средств в виде 1% крема. Микостатическая активность определялась методом качественного и количественного анализа. Количественным методом препараты после приготовления рабочей дозы навески вещества подвергались исследованию при помощи раститровки каждого из препаратов в жидкой селективной среде для грибов. Количественным методом определялась чувствительность готовых фирменных кремов на плотной питательной среде методом «луночных колодцев». Испытуемым материалом для проведения опыта служили клинические патогенные культуры грибов *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Phodotorula rubra*. В нашем эксперименте вместо диметилсульфоксида в качестве растворителя мы применяли разработанную нами технику альбуминизации препарата стерильным 10% донорским альбумином, поскольку диметилсульфоксид обладает фунгицидным действием. Минимальная фунгицидная доза препарата ламизил составила в отношении *Candida albicans* — 1 мкг/мл, экзифин — 4 мкг/мл, тербизил — 2 мкг/мл. Для гриба *Phodotorula rubra* доза ламизила составила 7,8 мкг/мл, экзифина — 7,8 мкг/мл, тербинафина — 250 мкг/мл. Для грибов *Aspergillus*, *Microsporum canis* и *Trichophyton rubrum* доза ламизила составила 1 мкг/мл, экзифина — 1 мкг/мл, тербизила — 1 мкг/мл. «Методом секторов» на чашках Петри минимальной фунгицидной дозой для экзифина была 7,8 мкг/мл, ламизила — 1 мкг/мл и тербизила — 2 мкг/мл для *Candida albicans*. Для культур *Aspergillus*, *Microsporum canis* и *Trichophyton rubrum* роста грибов в секторах не получено на дозу 1 мкг/мл ламизила, а также экзифина и 2,0 мкг/мл тербинафина. Наиболее высокая активность в отношении культур грибов (метод «луночных колодцев») оказывали 1% крем ламизил и 1% крем экзифин, менее выраженную — 1% крем тербизил. На основании проведенного нами исследования наиболее высокой фунгицидной активностью обладал ламизил, близкой к нему — экзифин и несколько меньшей — тербизил. Однако, учитывая социально-экономическую сторону использования препаратов, все исследованные тербинафины достаточно эффективные и могут быть использованы для грибковых инфекций человека.

РЕЦИДИВИРУЮЩИЙ КАНДИДОЗ ПИЩЕВОДА У ВИЧ/СПИД-НЕГАТИВНЫХ БОЛЬНЫХ: ВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИХ К ФЛУКОНАЗОЛУ

Шевяков М.А., Мелехина Ю.Э., Выборнова И.В., Колб З.К.,
Богомолова Т.С., Климко Н.Н.

НИИ медицинской микологии им. П. Н. Кашкина,
МАПО

Санкт-Петербург

Цель исследования установление видовой принадлежности и чувствительности к флуконазолу *in vitro* возбудителей рецидивирующего кандидоза пищевода у ВИЧ/СПИД-негативных больных.

Материалы и методы. Нами обследованы 55 пациентов с кандидозом пищевода (34 женщины и 21 мужчина) в возрасте от 31 до 79 лет (медиана – 51 г), проходивших лечение в клинике НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина СПбМАПО. У всех обследованных была исключена ВИЧ-инфекция. Среди факторов риска кандидоза слизистых оболочек у обследованных пациентов отмечали терапию системными глюкокортикостероидами по поводу бронхиальной астмы или ревматоидного артрита, сахарный диабет 1 типа, онкологические и другие заболевания. Диагноз кандидоза пищевода был установлен на основании выявления эндоскопической картины фибринозного эзофагита в сочетании с обнаружением псевдомицелия *Candida* spp. в мазках-отпечатках слизистой оболочки пищевода при микроскопии препаратов, окрашенных по Романовскому-Гимза. Также у пациентов получали биоптаты слизистой оболочки пищевода для культурального исследования и определения видовой принадлежности штамма возбудителя кандидоза. Для определения чувствительности (NCCLS протокол M44-P) производили высев суточной культуры гриба на среду Мюллер-Хинтон с добавлением метиленового синего с глюкозой, и инкубировали при 35°C на 20–24 ч. Далее при помощи анализирующего прибора «BIOMIK» устанавливали минимальную подавляющую концентрацию флуконазола в mcg/ml.

Результаты. У большинства больных (96,4%) кандидоз пищевода был вызван *Candida albicans*. У 54 пациентов штаммы, вызвавшие кандидоз пищевода были чувствительны к флуконазолу *in vitro*, у одного мужчины штамм *Candida albicans* был отмечен дозависимой чувствительностью. Так же выявили: у женщины 56 лет с ахалазией кардии – штамм *Candida glabrata*, резистентный к флуконазолу, и у женщины 30 лет с криптогенным иммунодефицитом – штамм *Candida tropicalis*, к флуконазолу чувствительный. Курс терапии флуконазолом от 150 до 200 мг в сутки продолжительностью 14 дней получили 54 пациента.

При контрольной фиброэзофагоскопии, выполненной в срок от 1 до 3-х недель после окончания курса антимикотической терапии, отметили исчезновение эндоскопической картины эзофагита. При лабораторном исследовании биопсийных материалов слизистой оболочки культуры гриба при посеве и элементов гриба при микроскопии не обнаруживали. Однако при выполнении фиброэзофагоскопии еще через 4–6 месяцев, у 23 (42,6%) пациентов был зарегистрирован рецидив кандидоза пищевода.

Заключение. Кандидоз пищевода у ВИЧ-негативных больных, как правило, вызван штаммами *Candida albicans*, чувствительными к флуконазолу. Частота ранних (4–6 мес) рецидивов после успешного лечения составила 42,6 %. Рецидив кандидоза пищевода не связан с видом и резистентностью возбудителей к флуконазолу.

Глава 7

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ГРИБОВ

НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

*Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздкова Т.С.
Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск, Беларусь*

По данным европейского регионального бюро ВОЗ считается, что около 80% всех заболеваний так или иначе связано с питанием, а 41% — с основными детерминантами питания. Для населения Беларуси характерны дефицитные состояния, связанные с недостатком витаминов, ненасыщенных жирных кислот, пищевых волокон, с уровнем потребления микронутриентов вследствие геохимических особенностей региона (недостаток йода, селена). Путь решения этой проблемы лежит в расширенном применении функциональных препаратов с высокой пищевой и биологической ценностью, главной целью употребления которых является достижение уровня оптимальной обеспеченности организма нутриентами, формирование физиологического депо незаменимых факторов питания, которые способствуют повышению функциональных ресурсов человека, его работоспособности, качества жизни и устойчивости к действию факторов внешней среды. Перспективным источником таких препаратов, как показывает мировая практика, являются базидиальные грибы. Это, в первую очередь, известные на Востоке гриб рейши (*Ganoderma lucidum*), ши-и-таке (*Lentinus edodes*), а также вешенка (*Pleurotus ostreatus*). Большую ценность представляет и серно-желтый трутовик (*Laetiporus sulphureus*), произрастающий в Беларуси и синтезирующий каротиноидные пигменты. Несмотря на огромный потенциал лекарственных грибов, в Беларуси промышленное производство как самих грибов, так и функциональных препаратов на их основе начинает только налаживаться. На сегодняшний день в Беларуси допущены к применению 943 БАД к пище. 126 из этих наименований производятся в Беларуси, только 4 — грибного происхождения. Белорусские БАД созданы на основе глубинного мицелия грибов, а не традиционно используемых плодовых тел, поскольку глубинное культивирование позволяет получать экологически чистое сырье — субстанцию с заданными свойствами.

Исследования показали, что по содержанию важнейших биологически активных веществ мицелий не уступает плодовым телам, по накоплению же белков, липидов, полисахаридов и каротиноидов превосходит их. В глубинном мицелии, как и в плодовых телах, накапливаются соединения ароматической природы, флавоноиды типа флавонов (шии-таке, вешенка), меланины (шии-таке), ганодериковые кислоты (рейши), каротиноиды (серно-желтый трутовик). Наличие комплекса соединений обеспечивает высокую антиоксидантную активность (АОА) экстрактов глубинного мицелия, которая близка таковой плодовых тел.

Полученные на основе глубинного мицелия БАД содержат уникальный комплекс биологически активных веществ. Основой получения БАД «Лентин», «Диалентин» и «Рейшидин» явились фармкультуры полисахаридсинтезирующих грибов *L. edodes* и *G. lucidum*. Исследования биохимического состава сухого мицелия грибов – субстанции БАД показало, что содержание общего белка в биомассе составляло 30,0–36,0 %, эндополисахаридов – 10,0–12,0%. Истинный белок по сумме аминокислот – 14,0–17,0 %. Содержание незаменимых аминокислот: изолейцин – 3,6–4,3%, лейцин – 7,3 – 9,4%, лизин – 1,6–9,2%, метионин + тирозин – 6,1–8,4 %, треонин – 4,1–4,7 %, валин – 5,5–6,9 %. Содержание липидов в глубинном мицелии – 8,0–12,0%. Сумма ненасыщенных жирных кислот составила 62,0 – 77,0%, насыщенных – 23,0–38,0 %. Количество олеиновой кислоты (С18:1) – 2,8–10,6%, линолевой (С18:2) – 51,3–72,6%. Фосфолипиды – 1,0–1,5%, эргостерин – 1,0–1,3%. Фенольные соединения составили – 680,0–762,0 мг %. Общее содержание углеводов достигает 47,0–53,2%. Представлены они спиртовой, водной, кислотной, двумя щелочными фракциями, хитином и эндополисахаридом. Грибы синтезируют на подобраных питательных средах до 6 г/л и более экзополисахаридов. АОА экстрактов глубинного мицелия полисахаридсинтезирующих грибов 85–90% по отношению к иону. В биомассе присутствует значительное количество минеральных элементов: Ca, K, Na, Fe, Mg, P.

Содержание общего белка в мицелии гриба *L. sulphureus* – субстанции БАД «Летипорин» – 18,0–22,0%. Истинный белок по сумме аминокислот – 7,0–8,0%. Содержание незаменимых аминокислот: изолейцин–2,8%, лейцин – 5,3%, лизин – 4,1%, метионин + тирозин – 4,2, треонин – 4,3%, валин – 4,9. Содержание липидов в глубинном мицелии гриба – 19,0–23,0%, сумма ненасыщенных жирных кислот составила – 85,2%, насыщенных – 14,8%. Количество олеиновой кислоты (С18:1) – 10,4%, линолевой (С18:2) – 74,8%. Фосфолипиды составили 1,6–1,8%, эргостерин – 1,2–1,3%. Общее содержание каротиноидов в мицелии гриба – 10,0–12,0 мг/г абсолютно сухой биомассы. В составе каротиноидных пигментов обнаружены три фракции, представляющие собой кетокаротиноиды. Количественное соотношение каротиноидных фракций в общей компоненте, (%): 6,4:86,7:6,9. Наиболее высокий удельный вес приходится на пигмент, получивший тривиальное название «летипороксантин». Антиоксидантная активность спиртового каротиноидсодержащего экстракта составляет – 85,0–95,0 % по отношению к иону и обусловлена не только каротиноидными пигментами, но и другими липофильными компонентами экстракта (эргостерин, тритерпеновые кислоты, фосфолипиды и др.). В биомассе гриба *L. sulphureus* также присутствуют минеральные элементы: Na, K, Ca, Mg, P и Fe.

Хранение субстанций и самих БАД в течение 24 месяцев при температуре +50°C не влияло на изменение важнейших показателей: влажность, белок, полисахариды, липиды, фенольные соединения. На-

ибо более высокая сохранность каротиноидных пигментов отмечена при сушке мицелия в токе теплого воздуха и обработке его аскорбиновой кислотой (10^{-1} М) либо ионолом (0,5%).

Безвредность БАД на основе глубинного мицелия грибов подтверждена результатами исследований республиканского УП диагностических и лекарственных препаратов «Диалек» (г. Минск). В исследованиях, проведенных на лабораторных животных (белые мыши, крысы, морские свинки и кролики), показано отсутствие общего токсического действия БАД. Установлено, что при пероральном поступлении в организм опытных животных БАД не обладают кожно-раздражающим и раздражительным действием, а также не проявляют каких-либо существенных функциональных и структурных нарушений со стороны жизненно важных систем организма животных.

Установлено иммуностимулирующее, гепатопротекторное и антиоксидантное действие БАД. БАД зарегистрированы в МЗ РБ (№ 08-33-0.272447, 08-33-0.274230, 08-33-0.272449, 08-33-0.274321) и рекомендованы для восполнения витаминной и минеральной недостаточности, уменьшения отрицательного воздействия неблагоприятных экологических факторов, повышения иммунитета, устойчивости к простудным заболеваниям, выведения из организма радионуклидов, тяжелых металлов, экзо- и эндотоксинов, превосходят мировые аналоги по содержанию полисахаридов и каротиноидов.

Поскольку основу разработанных БАД составляют углеводные энергетические комплексы и антиоксиданты (свободные и структурные углеводы цитозоля, углеводные протекторы, кислородсодержащие соединения), есть все основания полагать, что они с успехом могут быть использованы спортсменами.

ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БАДОВ СЕРИИ «МИКОСВИТ»

Бисько Н.А.¹, Шевчук Е.Ю.², Митропольская Н.Ю.¹, Билай В.Т.

1 — Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины

2 — ООО «СБ«МУР»

Киев

В последние годы внимание ученых всего мира направлено на изучение возможности использования грибов в качестве источника биологически активных и лечебных веществ. Лекарственные грибы — основа БАДов — удачно сбалансированный природой комплекс биологически активных веществ. В качестве сырья при получении БАДов используются плодовые тела и биомасса (мицелий) лекарственных грибов и различные растительные компоненты.

Задача, возложенная на БАД проста – профилактика и лечение заболеваний за счет восполнения комплекса биологически активных веществ, которые наш организм стал недополучать в связи с резким изменением структуры питания.

Биологически активные добавки серии «Микосвит» на основе лекарственных грибов (*Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Grigola frondosa*, *Coriolus versicolor*, *Inonotus obliquatus*, *Schizophyllum commune*, *Fomes fomentarius*, *Hericium erinaceus* и др.) представляют собой натуральные, сбалансированные природой, комплексы БАД, необходимые организму человека: аминокислоты, в том числе незаменимые, ненасыщенные жирные кислоты, включая арахидоновую; ферменты, полисахариды, меланины, терпены, минеральные элементы Ca, K, Mg, Fe, Zn, Se, Co и др.; витамины D2, C, группы B. Изучение влияния биологически активных добавок серии «Микосвит» на иммунологический и гормональный статус больных проводилось на базе Института гематологии и переливания крови, г. Киев.

Клинические испытания проводились в группе больных из 24 человек с различными диагнозами: ИБС, стенокардия, хронический бронхит, артериальная гипертензия.

Имунологическую реактивность до и после приема БАДов «Микосвит» изучали путем комплексного исследования клеточного, фагоцитарного и гуморального звеньев иммунного статуса (ИС) пациентов, которое представляло собой определение в крови следующих параметров, позволяющих судить о состоянии клеточного звена ИС: абсолютное количество лейкоцитов, относительное и абсолютное количество лимфоцитов, результаты фенотипирования лимфоцитов с моноклональными диагностикумами с подсчетом относительного и абсолютного количества клеток, несущих маркеры Т-лимфоцитов (CD3+), В-лимфоцитов (CD22+), регуляторных клеток Т-хелперов (CD4-1-), Т-супрессоров (CD8+), а также естественных киллеров (CD16+), Т-лимфоцитов с рецептором к ИЛ-2 (CD25+), иммунорегуляторному индексу (ИРИ). Фагоцитарное звено было представлено фагоцитарным индексом и фагоцитарным числом на 30 и 120 минуте, индексом завершенности фагоцитоза, что позволило оценить поглотительную и переваривающую функцию нейтрофилов.

Состояние гуморального иммунитета отражали уровни иммуноглобулинов основных классов А, О, М, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), преципитированных различными концентрациями ПЭГ М.М. 6000, относительной величиной ЦИК. Для адекватной и более корректной оценки иммунного статуса изучаемых групп пациентов были использованы данные сезонной иммунограммы, что соответствовало периоду проведения исследований. Полученные результаты проанализированы. Проведен индивидуальный анализ иммунограмм в группах пациентов, применявших БАД «Микосвит» в динамике.

Больные с диагнозом «хронический бронхит» принимали БАД «Микосвит №3» (на основе *G.lucidum*) (по 1 капсуле 2 раза в день в течение 30 дней); больные с диагнозом «ИБС, стенокардия, артериальная гипертензия» принимали БАД «Микосвит №9» (на основе *L.edodes* и *Tremella fuciformis*) (по 1 капсуле 2 раза в день в течение 30 дней). У всех пациентов до и после проведения курса лечения БАД проводился забор крови, в которой исследовали иммунологические показатели организма.

После приема больными БАДов «Микосвит» у них был ликвидирован дефицит в системе фагоцитоза, значительно выросла функция нейтрофилов. В гуморальном звене иммунитета ликвидирован недостаточный биосинтез иммуноглобулина G. После приема БАДов «Микосвит» эффективно снизился уровень ЦИК. Со стороны клеточного звена БАДы «Микосвит» достоверно повышали относительное количество Т-лимфоцитов.

Проведенный анализ иммунограмм свидетельствует об иммуномодулирующем влиянии БАДов «Микосвит». Изменение показателей иммунограмм в наблюдаемой группе больных (по сравнению с контрольной) сочетались со значительным улучшением клинического состояния пациентов. У больных опытной группы отмечено повышение активности гуморального звена иммунной системы. В частности, выявлено увеличение в сыворотке крови уровня IgY на 33%, IgA на 27% и С 3 компонента комплимента на 32% по сравнению с исходным. БАДы «Микосвит» способствовали также положительной динамике показателей, характеризующих состояние липидного обмена, гепатобилиарной системы, системы гомеостаза обследованных больных.

Работа выполнена при поддержке ДФФД министерство образования и науки Украины.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКОТОНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ С

*Вовк А.Д.¹, Соляник И.В.¹, Сенюк О.Ф.², Ковалев В.А.²,
Задорожная Л.В.³, Немченко Н.Н.³, Кляуз Н.В.³, Горовой Л.Ф.⁴*

1 – Институт эпидемиологии и инфекционных болезней АМН

Украины им. Л.В. Громашевского Киев, Украина

2 – Институт проблем безопасности атомных электростанций

НАН Украины

Чернобыль, Украина

3 – Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г.

Киев, Украина

4 – Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН

Украины

Киев, Украина

По существующим оценкам в настоящее время около 3% населения планеты инфицировано вирусом гепатита С (ВГС), при котором хронический гепатит формируется у 70–80% больных. В индустриально развитых странах 40% циррозов печени и 60% гепато-целлюлярной карциномы являются следствием ВГС. Согласно прогнозам ВОЗ в ближайшие 10–20 лет инфекция, вызываемая ВГС, станет основной причиной транс-плантации печени, при этом количество больных, нуждающихся в пересадке органа увеличится на 60%. Персистенция ВГС как в гепатоцитах, так и в лимфоидных клетках и кератиноцитах, вызывает не только органоспецифические, но и системные нарушения и может считаться возбудителем мультисистемного заболевания. Поэтому наряду с поисками эффективных этиотропных препаратов острую актуальность приобретает разработка противовоспалительных средств с широким спектром действия – способностью блокировать свободнорадикальные реакции, устранять метаболические сдвиги, способствовать нормализации иммунных сдвигов.

Наиболее перспективным в этом отношении является Микотон – препарат из высших базидиальных грибов, обладающий всем спектром указанных биологических активностей. Он представляет собой меланин-глюкан-хитиновый комплекс (МГХК) с сохраненной архитектурой клеточной стенки грибов. Ему свойственна чрезвычайно высокая связывающая активность по отношению к солям тяжелых металлов и радионуклидов, а также к токсическим метаболитам – креатинину, мочеvine, желчным кислотам и т.д. Детоксикационная функция препарата проявляется также в нормализации баланса протеинов, холестерина и билирубина в плазме крови, а также в восстановлении транспортной функции альбуминов. При этом он индифферентен к биогенным микроэлементам и не нарушает минеральный обмен. Известно, что им-

мунонормализующая активность препарата у больных с хроническими вирусными гепатитами В и С проявляется в регулировании уровня и функции специфического иммунного ответа и аутоиммунитета, фагоцитоза, продукции иммуноглобулинов. У водорастворимой фракции МГХК *in vitro* модельных тест-системах установлены выраженные антибактериальные (*Helicobacter pylori*), антигрибковые (*Candida albicans*) и антивирусные (*Herpes vulgaris I*) свойства, сравнимые с таковыми у известных антибиотиков, фунгицидных и вируцидных препаратов и в ряде случаев превосходящие их.

Цель работы – исследование клинической эффективности препарата Микотон у больных с хроническим гепатитом С, не получавшие никакого другого лечения. В исследовании принимали участие 54 пациента с хроническим ВГС, АвВГС- и РНКВГС-положительных.; среди них – 16 женщин и 38 мужчин (в возрасте от 18 до 60 лет).

Низкая активность гепатита (показатели аминотрансфераз, АлАт от 0 до 3) была выявлена у 42 пациентов, умеренная (АлАт от 3 до 10) – у 10 и высокая активность (АлАт > 10) – у двоих больных. Кроме рутинных (общеклинических и биохимических), каждому пациенту проводили иммунологические исследования. Оценивали Т- и В-клеточный иммунный ответ, сывороточные уровни аутоантител к экстрактам аутопсийной человеческой ткани коркового и пирамидного отдела почек, поджелудочной железы, сердца, аорты, легких, серого вещества мозга, толстого кишечника, щитовидной железы, а также к печеночно-специфическому липопротеину (АуАТ-ПСЛ). Известно, что повышенный уровень АуАТ-ПСЛ ассоциируется с активным хроническим гепатитом, в частности с аутоиммунным гепатитом. У 22 двух пациентов с ХГС Микотон использовали как основное средство корригирующего лечения по 0,5 г три раза в день (курс лечения 10 дней). Сравнение проводили с результатами лечения 32-х пациентов, получавших противовирусную терапию (препараты α -интерферона, рибавирин, эрбисол, протеклазид), а также с контрольными показателями (показатели доноров крови Станции переливания крови г. Киева, у которых были исключены заболевания гепатобилиарной системы).

Показано, что при ВГС повышаются сывороточные АуАТ против указанных органов, при этом содержание АуАт-ПСЛ превышает контрольные уровни в 1,5–4 раза. Результаты выполненного исследования свидетельствуют о том, что у пациентов, завершивших лечение МГХК и прошедших надлежащее обследование, имело улучшение субъективной оценки самочувствия, тенденции к нормализацией уровней циркулирующих Т- и В-лимфоцитов, а также иммунорегуляторных Т-клеток. Эти изменения регистрировались на фоне снижения уровней аланинаминотрансферазы в 1,5 раза, и билирубина в 1,4 раза. Известно, что аланинаминотрансфераза является внутриклеточным ферментом. Принято считать, что возрастание его содержания в плазме крови является свидетельством разрушения клеток, особенно гепатоцитов, где его

количество значительно выше, чем в других органах. Поэтому возрастание АлАТ в плазме крови наряду с повышением уровня билирубина можно рассматривать в качестве маркеров активности гепатита.

Полученные нами данные о клиническом применении Микотона в качестве основного лекарственного средства у больных ХГС свидетельствуют о способности этого биологически активного комплекса оказывать *in vivo* детоксицирующую и иммунокорригирующую активность с одновременной реализацией противовоспалительного и гепато-протекторного воздействия. Микотон не токсичен, не имеет противопоказаний к длительному применению (не обладает побочными действиями и индифферентен к биологически активным макро- и микроэлементам) и может быть рекомендован для включения в комплексные схемы лечения хронического гепатита С.

РАЗРАБОТКА ПУТЕЙ СТАБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ «ЛЕТИПОРИН»

*Гвоздкова Т.С., Черноок Т.В., Бабицкая В.Г.
Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск*

Основой биологически активной добавки (БАД) «Летипорин» является субстанция, представляющая собой сухой порошкообразный мицелий красно-оранжевого цвета, полученный на основе базидиального гриба *Laetiporus sulphureus*. Носителем биологической активности мицелия гриба является липокаротиноидный комплекс. В липидной части мицелия, составляющей 20–25% в расчете на сухое вещество (СВ), наиболее важными и физиологически активными компонентами являются полиеновые пигменты каротиноидной природы (0,8–1,0%), фосфолипиды (4–7%), стероидные соединения, в том числе, провитамин Д (более 1,0%) от СВ мицелия и тритерпеновые кислоты. В составе липидов мицелия гриба *L. sulphureus* содержатся насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты с четным числом атомов углерода (от 12 до 18). Из насыщенных жирных кислот преобладает пальмитиновая кислота (13–16% от общей суммы кислот). Более 65–70% приходится на долю линолевой кислоты.

Липокаротиноидный комплекс мицелия гриба *L. sulphureus* характеризуется высокой антиокислительной активностью (70–90% от АОА ионола), которая обусловлена не только природой входящих в него компонентов, но и их синергическим взаимодействием.

В экспериментах *in vivo* установлен высокий потенциал антиоксидантного действия БАД «Летипорин», ее радио- и гепатопротекторные свойства.

Биохимический состав сухого мицелия гриба – субстанции БАД определяет достаточно широкий спектр ценных биологических свойств входящих в нее компонентов, что в свою очередь делает возможным применение ее в качестве питательного и лечебно-профилактического средства.

Получение подобных биологически активных добавок предусматривает не только их производство, но и хранение без существенной потери их биологической активности. Одной из основных причин изменения и снижения качества, а также биологической ценности препарата может явиться окислительная деструкция органических веществ – составных компонентов БАД. Прежде всего, это касается наиболее ценных в биологическом отношении липидосодержащих соединений: каротиноидов, полиеновых жирных кислот, фосфолипидов и жирорастворимых витаминов. В процессе получения и хранения субстанции БАД природные антиоксиданты, содержащиеся в мицелии гриба, быстро расходуются под воздействием различных внешних факторов (освещение, температура, кислород воздуха и др.), что приводит к резкому снижению устойчивости к окислению липидных компонентов, особенно каротиноидов, и вызывает необходимость введения извне стабилизаторов-антиоксидантов. С помощью стабилизаторов-антиокислителей возможно отдалить начало интенсивного протекания процесса перекисного окисления липидов, предохранить наиболее уязвимые компоненты липидов (например, каротиноиды) от разрушения в реакциях со свободными радикалами, предотвратить потерю биологической ценности БАД и продлить сроки ее годности.

Стабильность различных субстанций, содержащих полинепредельные липофильные соединения, особенно липокаротиноидные, во многом определяется выбором антиоксиданта-стабилизатора, его природой и концентрацией, а также способом введения, временем обработки, температурой, длительностью сушки продукции и др. факторами. С целью увеличения стабильности БАД «Летипорин» проведены сравнительные исследования влияния различных антиоксидантов пищевого класса на сохранность компонентов липокаротиноидного комплекса. В качестве антиоксидантов-стабилизаторов были использованы ионол (в концентрации 0,02%, 0,05% и 0,5%); аскорбиновая кислота (в концентрации 10-4М, 10-3М, 10-1М, 1М); смеси ионола и аскорбиновой кислоты; смеси ионола, аскорбиновой кислоты и α -токоферола (в различных соотношения); антиоксидантные композиции пищевого класса (DANISKO A/S, Дания) – № 109 – (бутилксианизол – 10%, ионол – 10%, пропилгаллат – 6%, лимонная кислота – 6%, моно- и диглицериды жирных кислот – 68%); № 1021 – (аскорбилпальмитат – 20%, натуральные токоферолы – 10%, эфиры лимонной кислоты и моно-, диглицериды жирных кислот – 70%); № 204 – (трет-бутилгидрохинон – 20%, лимонная кислота – 10%, пропиленгликоль – 70% (в концентрации 0,03% и 0,05%). Сохранность липокаротиноидного

комплекса проверяли каждые 2–3 месяца, анализируя образцы в опыте и контроле по следующим показателям: содержание общих липидов и их жирнокислотный состав, содержание каротиноидов, фосфолипидов и эргостерина, а также влажность, содержание истинного и общего белка, аминокислотный состав. Количественные соотношения липид-содержащих компонентов исследованы в динамике хранения в течение 12 месяцев. Введение стабилизаторов-антиоксидантов проводили следующим образом: с питательной средой; через 48 ч после начала ферментации; за 48 и 24 ч до съема опыта; за 2–5 ч до термической обработки мицелия гриба (в термостате при 55–60° С или токе теплого воздуха – 50–55°С).

Введение стабилизаторов-антиоксидантов в питательную среду, а также через 48 ч после начала ферментации и за 48 и 24 ч до съема опыта не оказало существенного стабилизирующего действия на сохранность каротиноидных пигментов после высушивания сырого мицелия. Потери каротиноидов в субстанции при этом были на уровне контроля (50–65%).

Наиболее высокая стабильность липокаротиноидного комплекса субстанции достигалась при обработке сырого мицелия стабилизатором-антиоксидантом за 2–3 часа до высушивания мицелия гриба в токе теплого воздуха (не выше 50–55°С). Это позволило сократить продолжительность сушки мицелия до 10–12 ч по сравнению с сушкой в термостате (40–48 ч) и снизить, в зависимости от природы стабилизатора, потери каротиноидов в субстанции на 3–20% по сравнению с контрольным вариантом. Среди проверенных антиоксидантов и их композиций наиболее эффективным стабилизатором оказалась аскорбиновая кислота в концентрации 10^{-1} М. Сохранность каротиноидов (более 60%) при этом была на 8–15% выше, чем в других вариантах опыта и на 20–25%, чем в контроле. Исследование сохранности в субстанции БАД каротиноидов, фосфолипидов, эргостерина, полиеновых жирных кислот (линолевой кислоты) в составе общих липидов показало, что их содержание изменяется более существенно в первые 6 месяцев хранения. При этом потери в содержании каротиноидов, фосфолипидов, эргостерина и линолевой кислоты составляют около 25%, 16%, 10% и 10%, соответственно, что примерно на 20% меньше, чем в контроле. При более длительном хранении субстанции БАД (свыше 12 месяцев) изменения в содержании биологически активных липидных компонентов были не столь существенны.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что обработка аскорбиновой кислотой (10^{-1} М) сырого мицелия гриба позволит не только сохранить качество субстанции и БАД, но и удлинить срок ее хранения.

НОВОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ИЗ ЭКСТРАКТА ГРИБА *FUSARIUM* *SAMBUCINUM* ОБЛАДАЮЩЕЕ ВЫСОКИМ ГЕПАТОПРОТЕКТЕРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

*Григораш А.И., Макланов А.И., Бобров В.И., Окунев О.Н.,
Самойленко В.А., Терешина В.М., Феофилова Е.П.*
ООО «Гелла-Фарма», ОАО «ВНЦ БАВ», ИБХФМ РАН, ИНМИ РАН
Москва

Основными этиологическими факторами повреждения печени являются вирусные инфекции и токсические соединения. Серьезной проблемой являются нарушения работы печени, обусловленные необходимостью постоянного приема лекарств, при хронических заболеваниях, например таких, как диабет, гипертония, сердечно-сосудистые заболевания и т.д. Известно большое количество препаратов гепатопротекторного назначения, полученных на основе химического синтеза, обладающих отрицательными побочными эффектами. В этом отношении выгодно отличаются средства природного происхождения и, в частности препараты, полученные из мицелиальных грибов. Гепатопротекторным действием обладает биологически активная добавка (БАД) «Флоравит Э», содержащая экстракт мицелиального гриба *Fusarium sambucinum* ВКМФ-3051D. Клинические испытания подтвердили высокую эффективность применения «Флоравит Э» при лечении вирусных и токсических поражений печени.

ООО «Гелла-Фарма» в 2005 году завершило разработку биотехнологии новых перспективных биологически активных средств (БАС) на основе грибных субстанций различного назначения. Выполнены первые клинические испытания на нелинейных белых крысах. Целью испытаний было определение гепатопротекторных возможностей новых БАС в условиях присутствия в рационе питания животных токсических веществ.

В качестве токсина было выбрано наиболее распространенное токсическое соединение, разрушающее клетки печени, каковым является этанол и потребление которого на душу населения увеличивается с каждым годом. Злоупотребление спиртными напитками приводит к развитию алкогольного гепатита, фиброзу, циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме.

Для испытаний было сформировано шесть групп животных. Контрольная группа получала обычный рацион сухих кормов. Вторая группа получала кроме корма этанол. Четыре группы получали дополнительно к этанолу БАС на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum*. Этанол крысы получали по 3 мл (или по 10–12 мл 50% этанола на 1 кг веса). Группы животных 3, 4, 5 и 6 дополнительно к этанолу получали по 0,2 мл БАС (или по 0,7–0,8 мл на 1 кг веса). Для группы 3, для сравнения в качестве БАС использовали БАД «Флоравит Э» полученный

в результате культивирования *Fusarium sambucinum*. Для группы 4 использовали БАС с рабочим названием «Флоравит-HSV». Группы 5 и 6 получали соответственно БАС 3 и БАС 4.

Возможность нейтрализации развития острого алкогольного гепатита, отчетливого гепатопротекторного и кардиопротекторного эффектов проверялись не только путем анализа изменения состояния печени, сердца и других органов испытуемых животных, но с помощью сравнения биохимических анализов крови животных.

На модели этанолового гепатита у крыс при исследовании сыворотки крови показано, что под воздействием этанола увеличивается уровень аланиновых аминотрансфераз (АЛТ) и аспаратаминотрансфераз (АСТ), содержание общего холестерина и холестеринавых липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП).

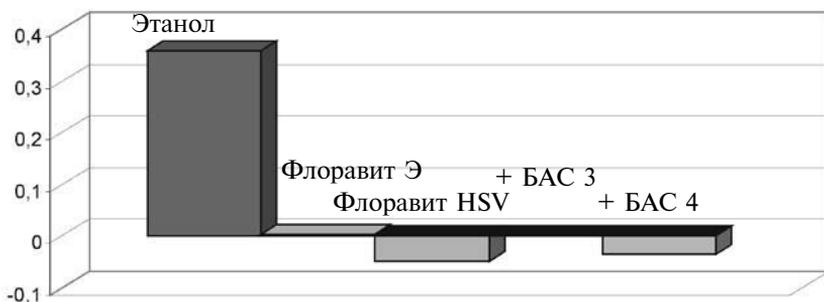


Рис. 1. Аланинаминотрансфераза (АЛТ) отклонение от контроля (о.е.)

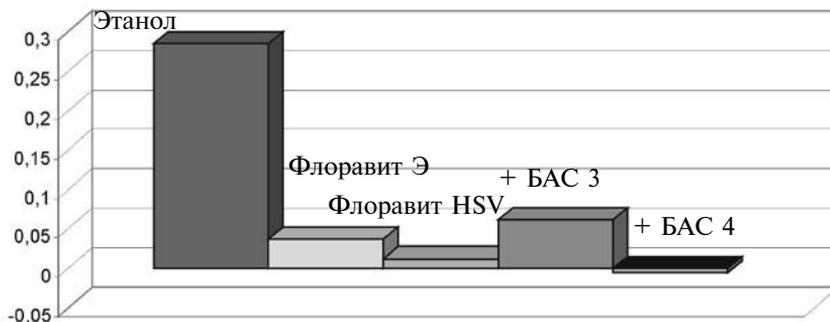


Рис. 2. Аспаратаминотрансферазы (АСТ) отклонение от контроля (о.е.)

На рис.1 и 2 представлены значения относительных отклонений от контрольных показателей аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) по соответствующим группам испытуемых животных.

В табл.1 и 2 приведены показатели относительных отклонений от контроля общего холестерина в сыворотке крови (м.моль/.л). и относительных отклонений от контроля общих липидов в сыворотке крови (г/л).

Табл. 1.

Этанол	Этанол+Флоравит Э	Этанол+Флоравит-HSV	Этанол+БАС3	Этанол+БАС4
0,488	0,049	0,123	0,189	0,078

Табл. 2.

Этанол	Этанол+Флоравит Э	Этанол+Флоравит-HSV	Этанол+БАС3	Этанол+БАС4
0,258	0,041	0,026	0,105	0,14

Очевидно, что все испытуемые БАС на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum* в той или иной мере защищают печень от разрушительного действия этанола.

Однако по сумме анализируемых показателей следует признать, что наиболее выраженным гепатопротекторным действием обладает новое лекарственное средство на основе экстракта *Fusarium sambucinum* «Флоравит-HSV».

БАД «ФЛОРАВИТ-Э» НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА *FUSARIUM SAMBUCINUM* – ЭФФЕКТИВНЫЙ ИММУНОМОДУЛЯТОР И АДАПТОГЕН

*Григораш А.И., Зайкина М.Ю., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А.,
Трифонов А.В.*

ООО «Гелла-Фарма»,

*Российская Медицинская Академия последипломного образования,
ФГУ, поликлиника № 1 УД Президента РФ, МЦ «Помоги себе сам»*

Ухудшение экологической обстановки, постоянное напряжение психо-эмоциональной сферы человека, изменение структуры питания привели к снижению устойчивости организма к вирусной и микробной агрессии. С каждым годом увеличивается инфицированность и заболеваемость вирусными гепатитами, синдромом приобретенного иммунодефицита, герпетической инфекцией. Появились и новые болезни: синдром хронической усталости, атипичная пневмония, появляются новые штаммы уже известных микроорганизмов и вирусов, возрастает угроза «птичьего гриппа». Причем, чем мощнее антибиотики и проти-

вовирусные препараты, тем изощреннее формы устойчивости микромира к ним.

Совершенно очевидно, что современные условия жизни требуют от человека расширения диапазона и скорости адаптации своего организма к постоянно меняющимся условиям жизни. Необходимость коррекции иммунитета диктует поиск новых иммуномодулирующих препаратов.

Клинические исследования и практический опыт показали целесообразность использования препаратов «Флоравит» при широком спектре состояний, обусловленных напряжением и угнетением иммунитета. В таблицах 1–5 приведены результаты исследований иммунного статуса у больных вирусным гепатитом «С», получавших «Флоравит».

Табл. 1. Динамика уровня Т-лимфоцитов

	Исходный уровень	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
До 1000	38%	10%	5%
1–1,5 тысячи	40%	31%	20%
1,5–2 тысячи	10%	44%	70%
Свыше 2 тысяч	12%	15%	5%

До лечения наблюдалась депрессия Т-клеточного звена иммунитета: ниже 1000 – у 38%. Через 3 месяца отмечалась отчетливая положительная динамика. После шести месяцев приема препаратов «Флоравит» процент больных с низким уровнем Т-лимфоцитов уменьшился до 5%.

После приема курса препаратов «Флоравит» у большинства больных наблюдалась отчетливая положительная динамика в нормализации уровня Т-клеточной популяции лимфоцитов.

Табл. 2. Динамика уровня Т-хелперов

	Исходный уровень	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
ниже 400	19%	2%	0
400–600	23%	12%	12%
600–800	27%	20%	21%
Свыше 800	31%	66%	67%

До приема препаратов «Флоравит» субпопуляция Т-хелперов угнетена до 600 клеток – у 42% больных.

Через 3 месяца приема препаратов «Флоравит» недостаточный уровень Т-хелперов наблюдался у 14% больных, а через 6 месяцев у 12%. При этом депрессии ниже 400 не наблюдалось ни у кого.

Таким образом, наблюдается отчетливая положительная динамика в нормализации уровня Т-хелперов.

Аналогичная картина наблюдалась и в динамике уровня Т- супрессоров, табл. 3.

Табл. 3. Динамика уровня Т-супрессоров

	Исходный уровень	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
ниже 400	18%	1%	0
400–600	44%	34%	20%
600–800	32%	55%	56%
свыше 800	6%	10%	24%

Число клеток Т-супрессоров до лечения ниже 600 у 62% больных. После трех месяцев лечения процент больных таких больных уменьшился до 35, а после 6 месяцев – до 20 соответственно.

Процент больных с уровнем Т-супрессоров от 600 до 800 тыс. и выше возрос от 38% (до лечения) до 80% после 6-месячного приема препаратов «Флоравит».

Таким образом, учитывая одновременное увеличение количеств Т-хелперов и Т-супрессоров полученный эффект следует считать положительным поскольку последние играют роль регулятора антителигенеза.

Депрессия В-клеточной фракции лимфоцитов (ниже 100) до применения препаратов «Флоравит» наблюдалась у 24% больных, табл. 4. Через 3 месяца приема препаратов «Флоравит» наблюдалась незначительная положительная динамика, которая через 6 месяцев стала отчетливой, процент больных с нормальным уровнем В-лимфоцитов достиг 81%.

Табл. 4. Динамика уровня В-лимфоцитов

	Исходный уровень	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
ниже 100	24%	20%	19%
100–200	49%	56%	58%
200–300	17%	19%	18%
свыше 300	10%	5%	5%

Анализируя изменения содержания НК-клеток, считаем особенно необходимым обратить внимание на уменьшение процента больных с высоким (свыше 600) уровнем натуральных киллеров, табл. 5. Через 3 месяца этот процент уменьшился с 12 до 6, что сохранялось и все последующее время. В это же время наблюдалось снижение вирусной нагрузки, т.е. уменьшалась антигенная стимуляция клеточного звена иммунитета.

Таким образом, по мере уменьшения количества разрушенных вирусом клеток печени, уменьшается необходимость в их утилизации и, соответственно, в количестве НК-клеток, осуществляющих эту миссию.

Табл. 5. Динамика уровня НК-клеток

	Исходный уровень	Через 3 месяца	Через 6 месяцев
ниже 200	24%	20%	26%
200–400	50%	58%	54%
400–600	14%	16%	14%
свыше 600	12%	6%	6%

Таким образом, препараты «Флоравит» оказывают регулирующее действие на уровень натуральных киллеров, не вызывая чрезмерную «киллерную» активность, и, соответственно, не могут провоцировать патологические аутоиммунные процессы.

Теперь остановимся на результатах исследования влияния препаратов «Флоравит-Э» на синтеза интерферонов.

Как известно, интерфероны активируют макрофаги, усиливают развитие и функцию НК-клеток, регулируют силу иммунного ответа. Вырабатываются, в основном, Т-лимфоцитами под влиянием антигена (вирус, митоген) в присутствии макрофагов, а также другими клетками.

У подавляющего большинства больных с вирусным гепатитом «С» до лечения имело место снижение синтеза α - и γ -интерферонов. После трех месяцев лечения препаратами «Флоравит-Э» наблюдалось повышение α -интерферона до нормальных цифр, а через шесть месяцев достигал нормы и показатель γ -интерферона, рис. 1.

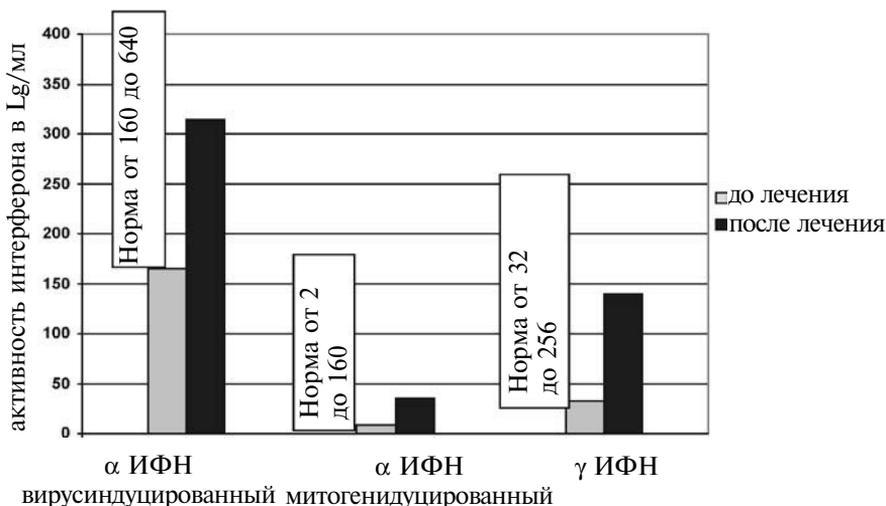


Рис. 1. Динамика показателей уровня лейкоцитарного интерферона у больных вирусным гепатитом С, получавших «Флоравит-Э»

Очень важно отметить, что при исследовании динамики показателей иммунного статуса, ни в одном случае не было зарегистрировано лейкоцитоза или гиперлейкоцитоза.

Аналогичные результаты получены и при исследовании иммунного статуса у больных с дисбактериозом и герпетической инфекцией. Таким образом, нормализация иммунитета при приеме препаратов «Флоравит» не зависит от этиологического фактора.

О положительном влиянии препаратов «Флоравит» на иммунный статус и независимость этого влияния от этиологических факторов, косвенно свидетельствуют и исследования динамики степени обсеменения *Hb.pylogi* при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Динамика степени обсеменения *Hb.pylogi* представлена в табл. 6.

Табл. 6. Соотношение пациентов с различной степенью выраженности обсеменения *Hb.pylogi*. до и после лечения препаратами «Флоравит» (курс лечения – 30 дней)

степень обсеменения	до лечения	после лечения
без обсеменения	0	36%
слабое	40%	30%
среднее	30%	24%
высокое	30%	10%

Совершенно очевидна эффективность препаратов «Флоравит» при хеликобактерной инфекции. Это также может быть связано с нормализацией иммунного статуса и укреплением факторов неспецифической защиты (улучшение микроциркуляции, регенерации слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, увеличением защитного слизиобразования).

Выводы:

1. Препараты «Флоравит» - эффективное средство неспецифической защиты организма. Восстанавливая качество обменных процессов (жировой, углеводный, белковый, минеральный), препараты «Флоравит» расширяют диапазон адаптации организма к неблагоприятным условиям, стрессовым ситуациям, инфекционной агрессии.

2. Препараты «Флоравит» являются эффективными иммунорегуляторами широкого спектра действия. Препараты «Флоравит» нормализуют интерферонез, регулируют адекватное дозревание лимфоцитов, восстанавливают уровень Т-популяции, в первую очередь Т-супрессоров и Т-хелперов, регулируют активность НК-клеток. Продолжительный прием препаратов «Флоравит» не приводит к развитию патологических аутоиммунных процессов.

3. Учитывая адаптогенный и иммуномодулирующий механизмы действия, препараты «Флоравит» могут быть рекомендованы для включения в комплексную терапию и с целью профилактики широкого круга заболеваний.

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗДОРОВИТЕЛЬНОЙ КОСМЕТИКИ И БАД «ФЛОРАВИТ» НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА FUSARIUM SAMBUCINUM ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ

*Зайкина М.Ю., Буякова И.В., Острокостова Н.В., Шилкина Н.М.,
Сеселкина Т.Н.*

*ООО «Гелла-Фарма», ФГУ Клиническая больница №1 УД
Президента РФ,*

*Институт клинической фармакологии НЦ экспертизы средств
медицинского применения Росздравнадзора, ГKB № 57
Москва*

Целостность кожных покровов и слизистых оболочек является необходимым условием поддержания постоянства внутренней среды организма. Заживление различных дефектов кожи – жизненно важная функция. Эстетическая характеристика «здоровая и молодая кожа» означает не что иное, как способность к качественной и своевременной замене или восполнению клеточного состава, элементов стромы, придаточных образований кожи, т.е. способность к регенерации.

Способность к регенерации зависит непосредственно от адекватного газообмена, обеспечения питательными веществами, состояния сосудистого русла, наличия цитокинов. Цитокины – продуцируемые клетками белковые молекулы, активно участвующие в межклеточных взаимодействиях. К цитокинам относят: колониестимулирующие факторы, интерлейкины, интерфероны и факторы некроза опухоли. Понятие «цитокины» не ограничено определенными рамками и включает также гормоны и многочисленные ростовые и супрессорные факторы. Эпидермальный ростовой фактор, тромбоцитарный ростовой фактор и фактор роста нервов имеют широкий спектр действия на регенерацию кожи.

Воспаление – необходимый этап в процессе восстановления целостности любого органа, в том числе кожного покрова и слизистых оболочек. Основная задача воспалительной реакции – локализация очага поражения и стимуляция регенерации клеток ткани. Заживление дефекта кожи может проходить как путем восстановления нормального клеточного состава (регенерация), так и с образованием рубца.

Деформирующий рубец – нежелательный вариант восстановления целостности, как кожных покровов, слизистых оболочек, так и внутренних органов. Рубец уменьшает функциональные возможности того или иного пораженного органа, не говоря уже о косметических дефектах, которые могут существенно влиять на психо-социальную адаптацию человека.

Скорость и качество регенерации зависит от возраста, гормонального фона, наличия хронических заболеваний. Особое значение име-

ет состояние печени и желудочно-кишечного тракта. Без улучшения реологических свойств крови, макро- и микроциркуляции, коррекции иммунологических сдвигов, нормализации обменных процессов в организме, трудно рассчитывать на успешные регенерационные процессы.

Все это заставляет искать новые методы и средства, влияющие на процессы регенерации кожи, включая иммунопатологические реакции, улучшающие состояние сосудистого русла, восстанавливающие эффективность факторов неспецифической защиты, сдвигающие процесс заживления в сторону нормальной регенерации.

С этих позиций представляет интерес опыт комплексного применения препаратов на основе экстракта мицелиального гриба *Fusarium sambucinum* (F.s.).

В аптечной сети представлены: БАД «Флоравит-Э» (водный и масляный растворы), лечебно-оздоровительная косметическая линия «Флоравит» и крем «Таис славянская», которые созданы на основе экстрактов F.s. «Флоравит косметический» (сертификат «косметическое сырье»).

«Флоравит косметический» представляет собой натуральный комплекс биологически активных веществ, необходимых организму человека, и содержит: полисахариды (маннаны, β -глюканы); ферменты, включая рибонуклеазы, протеазы, коллагеназу и др.; аминокислоты; антиоксиданты; микроэлементы (K, Mg, F и др.); витамины группы B, H и др.

Лабораторные исследования на морских свинках экстракта F.s. «Флоравит косметический» показали, что в опытной группе наблюдалось отшелушивание гиперкератоза на всем протяжении эпидермиса, уменьшение рядности зернистого слоя на 1–2 ряда, в дерме – умеренно выраженная фибробластическая реакция, увеличение толщины и количества коллагеновых волокон. Выявленные изменения свидетельствуют о наличии стимулирующего влияния экстракта на функциональные клетки эпидермиса – кератиноциты, а также клетки дермы – фибробласты. Также в субэпидермальных отделах уменьшалось скопление гистиоцитарных клеток, отмечена нормализация водно-электролитного баланса кожи. Таким образом, наблюдались отчетливые регенерирующий и противовоспалительный эффекты экстракта «Флоравит косметический» [1].

Клинические испытания БАД «Флоравит-Э» масляного и водного растворов показали высокую эффективность при применении у больных с различной патологией. Исследования доказали гепатопротекторный, адаптогенный и иммуномодулирующий эффекты препаратов «Флоравит» [2,3]. Восстанавливая качество обменных процессов, препараты «Флоравит» расширяют диапазон адаптации организма к неблагоприятным условиям, стрессовым ситуациям, инфекционной агрессии. Исследования иммунного статуса показали, что препараты «Флоравит» нормализуют интерфероногенез, регулируют адекватное созревание лимфоцитов, восстанавливают уровень T-популяции, в первую очередь T-супрессоров и T-хелперов, регулируют активность НК-клеток. Про-

должительный прием препаратов «Флоравит» не приводит к развитию патологических аутоиммунных процессов.

Особый интерес представляет результат, полученный при приеме препаратов «Флоравит» больными с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки. Выявлены выраженные регенерирующий и противовоспалительный эффекты препаратов «Флоравит-Э». После курса применения «Флоравит-Э» наблюдалось ускорение заживления язвенного дефекта, причем у многих пациентов без образования грубого рубца, что подтверждалось при эндоскопическом исследовании.

Полученные результаты явились основанием для местного применения косметических средств, изготовленных на основе «Флоравит косметический» и БАД «Флоравит-Э» при различных патологических изменениях кожного покрова.

Наиболее ярко регенерирующий эффект сочетанного применения препаратов «Флоравит» проявляется в практике комплексной терапии трофических нарушений (ишемический синдром, трофические язвы) при хронической артериальной и венозной недостаточности. На всю поверхность ног от периферии к центру наносится крем «Таис славянская» тонким слоем, обходя язвенный дефект (если таковой присутствует). На «мокнущую» язву накладываются примочки с водным раствором экстракта гриба *Fusarium sambucinum*, предварительно промывая язву 1% раствором перекиси водорода (при наличии гнойного отделяемого). На «сухую» язву - рыхлая повязка с кремом «Таис славянская». В начале применения препаратов «Флоравит» отмечалась активизация воспалительной реакции (расширение зоны покраснения, усиление отека, болевого синдрома), направленная на мобилизацию факторов неспецифической защиты, иммунитета и обеспечение адекватного кровоснабжения. В дальнейшем трофические язвы успешно реэпитализировались на фоне постепенного уменьшения воспаления.

При гиперэргической воспалительной реакции, например, при термическом поражении кожи, практически сразу после начала местного лечения препаратами «Флоравит» наблюдался отчетливый противовоспалительный эффект, уменьшение болевого синдрома, ускорение заживления путем активной регенерации.

Выводы:

1. Препараты «Флоравит» на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum* оказывают моделирующее влияние на воспалительный процесс, регулируют синтез и активность цитокинов, создают условия для стабилизации клеточных мембран и нормализуют транспортные процессы.

2. Препараты «Флоравит» на основе экстрактов гриба *Fusarium sambucinum* обладают отчетливым регенерирующим эффектом, создают условия для восстановления местного иммунитета, активизации обменных процессов, синтеза АТФ, стимуляции ангиогенеза и ускорения реэпитализации.

НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

*Петров П.Т., Скрипко А.Д., Литвинова Е.В., Дедюшко Н.А.,
Гриневич Л.Н.*

*РУП «Белмедпрепараты»
Минск*

Мицелиальные грибы являются продуцентами целого ряда биологически активных веществ: белков, липидов, полисахаридов, органических кислот, ферментов, витаминов и др. Многие из этих соединений являются фармакологически активными и, по сравнению с продуктами химического синтеза, менее токсичны и более эффективны при применении в медицинской практике. Поэтому одним из приоритетных направлений развития современной микробиологии и биотехнологии является разработка технологий с использованием мицелиальных грибов для получения биологически активных соединений, в том числе соединений, обладающих лечебными свойствами.

На протяжении последнего десятилетия в Научно-фармацевтическом центре РУП «Белмедпрепараты» разработан и внедрен в производство целый ряд лекарственных средств, действующей основой которых являются биологически активные вещества, продуцируемые микроскопическими грибами.

Особый интерес среди таких соединений представляет прежде всего биен – уникальный комплекс этиловых эфиров полиненасыщенных жирных кислот, получаемый из липидов грибной культуры *Entomophthora virulenta* (класс *Zygomycetes*) и стабилизированный α -токоферол ацетатом. Биен на 90-95% состоит из эссенциальных жирных кислот, в состав которых входят арахидоновая кислота – биопреdecessор простогландинов, лейкотриенов и других высокоактивных модуляторов клеточного ответа, а также незаменимые жирные кислоты линолевого и линоленового ряда, которые участвуют в регуляции активности различных транспортных и энергетических клеточных мембранных систем. Комплекс обладает гиполипидемическими, гипохолестеринемическими, репаратными, цитопротекторными свойствами. На основе биена разработано несколько лекарственных форм. Мазевые формы Репарэф-1 и Репарэф-2 применяют в качестве ранозаживляющих и противоожоговых средств. Мазь Дермарэф эффективна при лечении различных дерматозов, в том числе аллергической этиологии. Хорошо зарекомендовали себя на фармацевтическом рынке Республики Беларусь и лекарственные средства из биена в виде мягких желатиновых капсул: Антисклерол – средство, применяемое в терапии гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемии, атеросклероза, и Биен – средство, обладающее выраженным противовоспалительным эффектом, применяемое для лечения патологий желудочно-кишечного тракта.

Не меньший интерес для медицины представляет пигмент полифенольной природы меланин, синтезируемый грибной культурой *Aspergillus niger* (класс Deuteromycetes). Меланин характеризуется широким спектром биологической активности: обладает ярко выраженными фотопротекторными, противовоспалительными свойствами, оказывает антимутагенный и антиоксидантный эффект. Меланин является действующей основой лекарственного средства Меланиновая мазь. Препарат применяется в качестве лечебно-профилактического фотозащитного средства у больных с дискоидной красной волчанкой, фотодерматитами, солнечной экземой, крапивницей. Эффективен при применении у больных с витилиго для предупреждения солнечных ожогов на депигментированных участках кожи.

Разработана и внедрена в производство технология получения лекарственных средств на основе полисахаридов грибов. Полисахарид маннан, продуцируемый грибной культурой *Rhodotorula rubra* (класс Ascomycetes), является исходной субстанцией при производстве препарата Ронассан. Препарат обладает выраженным гиполипидемическим действием, значительно снижает уровень холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, улучшает иммунологические показатели, характеризуется стойкостью эффекта.

Полисахарид пуллулан, синтезируемый культурой *Aureobasidium pullulans* (класс Deuteromycetes), является основой плазмозамещающего лекарственного средства Ладпулин. Химическая структура пуллулана обеспечивает ему способность расщепляться под действием амилолитических ферментов крови, что исключает накопление высокомолекулярных фракций во внутренних органах и развитие куммулятивных эффектов последствия. С этой точки зрения, а также учитывая отсутствие ряда других побочных эффектов, присущих известным кровезаменителям на основе природных и синтетических полимеров, Ладпулин может рассматриваться как кровезаменитель нового поколения. Препарат рекомендован к применению в качестве лечебного и профилактического средства для устранения нарушений параметров макро- и микрогемодинамики при шоковых состояниях, являющихся следствием острой кровопотери различной этиологии, а также для улучшения гемореологических показателей крови, микроциркуляции и снижения склонности к тромбозам.

Перечисленные лекарственные средства зарегистрированы в Министерстве Здравоохранения Республики Беларусь и выпускаются в соответствии с утвержденной нормативно-технической документацией. Лекарственный препарат на основе биена Репарэф зарегистрирован в Министерстве Здравоохранения Российской Федерации.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ГРИБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ – ТРИАЗА

*Пленина Л.В., Гаврилов О.К., Кручинский Н.Г., Максимова Р.А.,
Серебрякова Т.Н., Цыманович С.Г.*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Белорусское государственное предприятие «Диалек»*

Триаза-очищенный ферментный комплекс, полученный из культуральной жидкости несовершенного гриба *Trichothecium roseum* Препарат обладает фибринолитической, активаторной и антикоагулянтной активностями. Доклинические исследования специфических и фармакологических свойств триазы на различных видах лабораторных животных выявили ее тромболитическое и противовоспалительное действие. Препарат нетоксичен, обладает пониженной антигенностью. Триаза не влияет на параметры гемостаза и не повышает тромбогенных свойств крови. В ходе первой фазы клинических испытаний препарат был применен у 24 больных с диагнозом острого тромбоза нижних конечностей и инфаркта миокарда. В ходе испытаний триазу вводили в дозах 500–500000 МЕ инфузионно-капельно в 400–800 мл физиологического раствора в течение 2 часов. Введение было или однократным (вся доза препарата вводилась в течение 2-х часов со скоростью 30–50 капель/мин.) или двукратным (первая доза препарата вводилась в течение одного часа, вторая – в течение 2-х часов). Проведение тромболитической терапии не сопровождалось увеличением числа тромбоцитов, изменением значений АЧТВ (гемостатический параметр). Сохранялась концентрация фибриногена и растворимых комплексов фибрин-мономера, что свидетельствовало об отсутствии в кровотоке пациента активного тромбиногенеза. Изменение фибринолитической активности проявлялось в ускорении лизиса сгустка из эуглобулиновой фракции. При лечении у пациентов не наблюдалось аллергических реакций, выраженных нарушений сердечного ритма, подъемов артериального давления и тахикардии. Отмечалась положительная динамика как у больных с тромбофлебитами (уменьшение площади уплотнения и болезненности в области тромбированных вен), так и у больных с инфарктом миокарда (эффект разрешения тромботического процесса).

Таким образом полученные данные показывают эффективность триазы при лечении тромбозов различной этиологии.

ГИСТОЛОГИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА МИКОТОН В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНЫХ РАН

Прилуцкая А.Б., Прилуцкий А.И., Дубчак В.Е.¹, Горовой Л.Ф.²

1 – Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца

2 – Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН

Украины

Киев, Украина

В хирургической и акушерско-гинекологической практике за последние годы наблюдается тенденция к увеличению частоты гнойных ран (до 35,0%). Ухудшение общих результатов лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей делает актуальным пересмотр традиционных методов терапии и разработку новых перспективных методов и средств. Оптимальным методом лечения, по нашему мнению, является непосредственное воздействие на рану и на организм больного в целом для восстановления иммунологического гомеостаза, который препятствует развитию гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде. Новые средства лечения гнойных ран интенсивно разрабатываются во всем мире. Большие перспективы в этом плане представляют материалы на основе хитина и хитозана, которые являются биodeградируемыми, атравматичными и проявляют собственный лечебный эффект.

Одним из таких материалов является «Микотон», который разработан на основе грибного хитина и других биополимеров. Он выпускается в Украине в виде биологически активной добавки, а для использования в хирургии может быть в форме присыпки, ватоподобного материала или в виде салфеток. Микотон обладает большим комплексом ценных для хирургии свойств: это кровоостанавливающее и обезболивающее средство, сорбент токсинов и детрита, он имеет мощные антибактериальные, иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства, он бесследно рассасывается в ранах, не оставляя шрамов и рубцов.

Наиболее эффективным является одновременное местное и пероральное применение микотона. Прием per os позволяет снизить интоксикацию организма и поднять общий иммунитет. Применение в качестве присыпки для ран дает возможность усилить местный иммунитет, избежать гнойно-септических осложнений и существенно сократить сроки лечения.

Целью данного исследования было изучение изменения структуры микотона и гистологии раневого процесса, а также оценка клинического эффекта препарата в лечении раневой инфекции после кесарева сечения и операции на промежности в родах.

Было обследовано 69 рожениц с гнойными послеоперационными ранами. Обследованные женщины были разделены на контрольную и

основную группы. Основную группу составило 42 роженицы, которым проводили аппликации микотона на рану тонким слоем 2–4 раза в сутки после проведения туалета раны 3% раствором перекиси водорода. Одновременно микотон применяли перорально по 0,5 г 6 раз в сутки в течение первых 2 дней с последующим переходом на трехкратный прием. Контрольную группу составило 27 рожениц, которым проводилось местное лечение 10% раствором хлорида натрия, 1% раствора диоксидина и мази Вишневского. Возраст пациенток составлял от 18 до 43 лет.

Для выяснения эффективности лечения гнойных ран изучали морфологию раневого процесса путем применения гистологических методов исследования. Изменения структуры микотона изучали при микроскопическом исследовании в проходящем и падающем свете. В суспензии препарат представлен множеством нитевидных структур коричневого цвета, которые представляют собой фрагменты клеточных стенок гиф. Волокна микотона имеют максимальную длину до 2 мм и диаметр до 10 мкм. Но большинство из них имеют длину до 0,1 мм. В суспензии и при ее высушивании волокна препарата располагаются равномерно.

Микотон в ране сохранял свои микроскопические свойства длительное время. Волокна микотона имели минимальное сродство с гематоксилином и эозином, но они интенсивно окрашивались по Романовскому-Гимза, воспринимали водный голубой при окрашивании трихромом по Масону. В тканях раны на третьи сутки лечения микотон идентифицировали как короткие волокна коричневого цвета, которые в основном находились в детрите, редко – в грануляционной ткани. Волокна препарата никогда не группировались, но возле них наблюдались оптически пустые «фенестры». В месте скопления волокон препарата происходило увеличение количества лимфоцитов и моноцитов, что свидетельствует о стимуляции местного иммунитета в ране. Микотон находился не только на поверхности раны. Он проникал на значительную глубину, включался в детрит и грануляционную ткань. В процессе заживления раны и формирования грануляции большинство волокон препарата отходило с детритом. Отдельные эозинофильные реакции в тканях раны, которые наблюдали в исследовании, мы связываем с повышением защитных свойств организма у рожениц.

На седьмые сутки лечения идентифицировать микотон в тканях раны было сложно. Это связано, на наш взгляд, с трансформацией волокнистой структуры, изменением тинкториальных свойств волокон, так как у них уже наблюдалось сродство к гематоксилину, что свидетельствовало об окислении их структурных компонентов. Волокна набухали, становились толще в диаметре, частично теряли коричневый цвет, но не изменяли свою гомогенность. Такие трансформированные структуры препарата чаще встречаются в местах активного коллагенеза, что подтвердилось специфичной окраской на соединительную ткань

трихромом по Масону. В этих местах на седьмые сутки происходило явление активного неоваскулогенеза и на девятые сутки – интенсивное фибриноидное пропитывание.

В этих исследованиях мы не наблюдали явлений формирования гранулем чужеродного тела и характерных инфильтраций с образованием клеток Ланханса. Впоследствии в заживших ранах микотон полностью биодеградировал, не оставляя шрамов и рубцов.

Таким образом, на основе проведенных гистологических исследований установлено, что течение репаративных процессов в ране при комплексном лечении с микотоном ускоряется на 4–5 дней в сравнении с традиционными методами лечения за счет активации функции макрофагов. Это в свою очередь обуславливает усиление синтеза цитокинов (интерлейкинов, интерферона), фактора роста эпидермальных клеток, фактора ангиогенеза, фибробластов. Ускорение репаративных процессов прослеживается на всех стадиях заживления раны, начиная с уменьшения гиперемии и отека на вторые сутки, некролиза и грануляции на третьи сутки, начала эпителизации на четвертые сутки и кончая выздоровлением на седьмые сутки.

Микотон не оказывает токсического действия на организм человека, не вызывает аллергических реакций, не способствует формированию гранул чужеродного тела. Это позволяет рекомендовать его как эффективное средство для лечения инфицированных ран в акушерско-гинекологической и хирургической практике. Полученные и ранее опубликованные данные по использованию микотона в клинической практике свидетельствуют о больших перспективах широкого применения этого нового материала.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИТИНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА МИКОТОН В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

Сенюк Х.В.¹, Сенюк О.Ф.², Горовой Л.Ф.³

*1 – Институт нефрологии АМН Украины
Киев, Украина*

*2 – Межотраслевой научно-технический центр «Укрытие»
Чернобыль, Украина*

*3 – Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН
Украины
Киев, Украина*

На сегодняшний день среди всей нефрологической патологии гломерулонефрит занимает второе место по частоте встречаемости в практике врача-нефролога и является одной из ведущих причин развития хронической почечной недостаточности. Относительно высокая распространенность гломерулонефрита среди молодой трудоспособной части населения, большой процент хронизации процесса, недостаточная эффективность традиционной терапии и неутешительность прогноза определяют социальную значимость проблемы.

Оптимизация консервативного лечения хронического гломерулонефрита (ХГН) является одним из наиболее актуальных вопросов современной нефрологии. О недостаточной эффективности традиционной терапии этой патологии свидетельствуют высокие показатели инвалидизации и смертности вследствие развития хронической почечной недостаточности, терминальные стадии развития которой требуют проведения постоянного гемодиализа и трансплантации почки. Традиционное медикаментозное патогенетическое лечение ХГН предусматривает использование сильнодействующих и агрессивных препаратов, таких как кортикостероиды и цитостатики, и т.п. Поэтому в отдельных случаях оно сопровождается развитием серьезных осложнений.

Одним из перспективных направлений в лечении ХГН является применение детоксикационных мероприятий, в частности продолжительное использование энтеросорбентов. Основными требованиями к энтеросорбентам следующие – высокая способность поглощать накопленные вследствие нарушенной функции почек токсичные вещества с одной стороны, и снижать уровень иммунного воспаления, с другой стороны. Вышеупомянутым требованиям отвечает хитинсодержащий препарат микотон. Это натуральный препарат, получаемый из биомассы высших базидиальных грибов. Он состоит из комплекса трех биополимеров – хитина, глюканов и меланинов. Благодаря такому составу микотон одновременно обладает сильными сорбционными,

антибактериальными, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами. Он не токсичен, не имеет противопоказаний и эффектов последствия.

Исследование клинической эффективности Микотона выполнено на 29 больных ХГН на базе Киевского городского нефрологического центра. Опытная группа, получавшая Микотон в течение двух недель, составила 20 человек, контрольная группа из 9 пациентов получала традиционное лечение.

В исследовании было проведено: определение способности микотона сорбировать «уремические токсины» в условиях *in vitro*; определение динамики показателей общих анализов крови и мочи, биохимических анализов крови, сывороточных уровней противопочечных аутоантител у больных ХГН на фоне комплексной терапии с применением микотона; определение динамики показателей общих анализов крови и мочи, биохимических анализов крови, сывороточных уровней противопочечных аутоантител у больных на фоне комплексной терапии без применения микотона; оценка отличий в показателях общих анализов крови и мочи, биохимических анализов крови, сывороточных уровней противопочечных аутоантител на фоне традиционной терапии и при применении микотона: разработка показаний к применению микотона и разработка оптимальных схем комплексной терапии.

В результате было показано, что Микотон в условиях *in vitro* проявляет способность снижать содержание мочевины и креатинина в сыворотках крови больных ХГН с гиперазотемией. У больных, принимавших микотон, регресс симптомов или их исчезновение наступали быстрее, чем у аналогичных больных, которым микотон не назначался. Уменьшения уровня мочевины в крови имело место в 1,5 раза чаще после лечения с использованием микотона, чем при применении традиционной терапевтической схемы. В результате лечения уменьшение креатининемии наблюдалось лишь в группе больных, принимавших микотон, при этом у трети пациентов повышенные уровни креатинина возвратились к нормальным значениям. Включение в комплексное лечение микотона ассоциировалось с тенденцией к нормализации соотношения Т/В клеток за счет более выраженного уменьшения в циркуляции В-клеток, отвечающих за продукцию специфических АТ.

Учитывая высокую сорбционную активность микотона относительно «уремических токсинов» *in vitro* и *in vivo*, его способность нормализовать иммунологические показатели, возможность и безопасность продолжительного внутреннего употребления по 1 чайной ложке дважды на день, доступность и относительную дешевизну, эта биологически активная добавка может рассматриваться как определенная альтернатива традиционным энтеросорбентам при комплексном лечении больных ХГН, в особенности с начальной и выраженной хронической почечной недостаточностью.

ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА БАД «ТРАМЕЛАН». БИОХИМИЧЕСКИЕ, МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Скворцова М.М., Горшина Е.С.
ООО «Микролек»
Москва

БАД «Трамелан» производится на основе сухой биомассы базидиального гриба траметеса опушенного (*Trametes pubescens* (Schumach.) Pilvt (*Coriolus pubescens* (Schum. ex Fr.) Qul.) [1,2]. Изучен его химический состав, показана безопасность и наличие биологической активности, в частности, выраженной иммуностропной активности, онкостатического и гепатопротекторного действия [3,4].

Известно, что основным действующим веществом грибов рода *Trametes*, определяющим его иммунокорректирующие свойства, являются полисахариды, а именно, β -гликаны. В связи с этим было проведено изучение полисахаридного состава биомассы штамма-продуцента, которое показало, что в сухой мицелиальной массе (без учета золы) содержание полисахаридов составляет 35%, основная часть которых представлена нерастворимым гликано-хитиновым комплексом. Доля растворимых полисахаридов клеточной стенки составляет около 2,0–2,5% от веса сухой биомассы. Их моносахаридный состав представлен глюкозой, содержание 1,3-гликозидных связей составляет 35%, ИК-спектры как гликано-хитинового комплекса, так и водорастворимых полисахаридов гриба отчетливо обнаруживают полосу поглощения 894 см^{-1} , что характерно для β -гликозидной связи.

Эти результаты позволили охарактеризовать полисахариды клеточной стенки *Trametes pubescens* как 1,3- β -глюканы, относящиеся к группе иммуномодулирующих полисахаридов, а саму биомассу гриба как источник β -глюканов.

На базе Научного центра экспертизы средств медицинского применения Росздравнадзора было проведено медико-биологическое исследование иммуностропной активности сухой биомассы гриба.

Оценку гемостимулирующего действия биомассы проводили с использованием модели иммунодепрессии у мышей, вызванной цитостатиком (циклофосфаном). Установлено, что биомасса гриба обладает иммуностимулирующим действием, оказывая влияние на гуморальный иммунный ответ, о чем свидетельствовала величина индекса стимуляции ИС 2,5–2,7. Одновременно показано, что биомасса гриба обладает выраженной гемостимулирующей активностью, о чем свидетельствовало в опытах с иммунодепрессией более интенсивное восстановление массы селезенки у опытных животных по сравнению с контролем.

Клиническое изучение БАД «Трамелан» проводилось Военно-медицинской академией им. С.М. Кирова на базе клиники Ленинградского

областного наркологического диспансера. БАД изучалась в качестве иммуномодулятора и антиастенического средства в постдетоксикационном периоде у больных с синдромом зависимости от алкоголя.

Изучение действия БАД «Трамелан» на течение постабстинентного периода проводилось по окончании курса стандартной детоксикации. Известно, что злоупотребление этанолом приводит к иммунодепрессии, с чем сопряжено развитие патологических процессов, которые сопровождают хронический алкоголизм.

Исследования по оценке фагоцитарной активности микро- и макрофагов периферической крови больных алкоголизмом в различные периоды заболевания показали, что в остром периоде у обследованных больных имело место существенное снижение собственно фагоцитарной функции гранулоцитов и моноцитов периферической крови. Проведение 14-дневного курса «Трамелана» улучшало поглотительную способность фагоцитирующих клеток. При этом проводимая терапия оказывала более благоприятное влияние на функционирование фагоцитирующих клеток крови женщин в сравнении с мужчинами.

Известно, что метаболизм фагоцитов опосредуется наличием в их лизосомах набора ферментов, которые могут действовать не только внутри клетки, но и высвободиться в окружающие ткани и кровь, составляя наряду с другими биологически активными веществами (комплемент, лизоцим, бета-лизины, лимфокины, монокины и др.) гуморальную составляющую иммунной системы. С этой целью в сыворотке крови больных были определены концентрации миелопероксидазы и нафтол-AS-ацетатэстеразы – ключевых ферментов кислородзависимого и кислороднезависимого метаболизма фагоцитов. Результаты проведенных исследований показали, что в остром периоде заболевания концентрации этих ферментов в сыворотке крови обследованных больных оказались достоверно ниже контрольных значений. Проведение курса «Трамелана» заметно улучшало секреторную функцию фагоцитирующих клеток, о чем свидетельствовало существенное повышение концентрации исследованных ферментов в сыворотке крови, хотя полного ее восстановления до контрольного уровня не происходило. Если исследования проводили у больных в период ремиссии, то в этом случае выявленные в остром периоде заболевания изменения по сравнению с контролем практически полностью нивелировались.

Выраженное негативное действие алкоголя на клеточные компоненты иммунной системы организма было подтверждено анализом количества в периферической крови больных CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов. В остром периоде заболевания регистрировалось достоверное в сравнении с контролем снижение количества CD4⁺-лимфоцитов и увеличение количества CD8⁺-лимфоцитов в периферической крови. По окончании курса БАД «Трамелан» у женщин, страдающих алкоголизмом, наблюдалась практически полная нормализация количественных показателей содержания в крови CD4⁺ и CD8⁺-лимфоцитов, в то же

время у мужчин, хотя и определялось некоторое повышение содержания в крови CD4⁺-лимфоцитов и снижение содержания CD8⁺-лимфоцитов, однако, нормализации этих показателей относительно контрольных значений не происходило. В посттерапевтическом периоде величины исследованных показателей у мужчин, страдающих алкоголизмом, также продолжали достоверно отличаться от соответствующих контрольных значений. По окончании терапевтических мероприятий больные в удовлетворительном состоянии выписывались из стационара и возвращались в привычную микросоциальную среду. При этом у них происходила практически полная редукция психопатологической симптоматики, отсутствовала тяга к приему алкоголя, наблюдалось отчетливое обратное развитие остаточных проявлений болезни (психопатологические расстройства, астеническая симптоматика, вегетативная дисфункция).

Известно, что лимфоциты не только определяют иммунологическую реактивность организма, но и выделяют биологически активные вещества, участвующие в энергетических и обменных процессах. В связи с этим было проанализировано изменение уровня в лимфоцитах периферической крови таких ферментов, как сукцинатдегидрогеназа (СДГ), альфа-глицерофосфатдегидрогеназа (альфа-ГФДГ) и неспецифические эстеразы (НЭ). Результаты показали, что в период обострения заболевания внутри лимфоцитов крови регистрируется почти двукратное по сравнению с контролем увеличение α -нафтол-AS-ацетатэстеразы. Под влиянием проводимой терапии величина исследованного показателя постепенно снижалась, однако продолжала достоверно превышать контрольные значения. В периоде ремиссии тенденция к снижению уровня α -нафтол-AS-ацетатэстеразы в лимфоцитах периферической крови мужчин, больных алкоголизмом, сохранялась, однако полного нивелирования различий с контролем не происходило. У женщин, больных алкоголизмом, в остром периоде отмечено незначительное по сравнению с контролем повышение в лимфоцитах уровня α -нафтол-AS-ацетатэстеразы, которое нивелировалось уже под влиянием проведения курса Трамелана.

В отличие от неспецифических эстераз, уровень сукцинатдегидрогеназы в остром периоде заболевания существенно снижался, что свидетельствовало о депрессии окислительно-восстановительных процессов, протекающих в лимфоцитах периферической крови. Под влиянием терапевтических мероприятий с применением Трамелана уровень этого фермента в клетках практически достигал контрольных значений.

Уровень альфа-глицерофосфатдегидрогеназы у обследованных больных в остром периоде заболевания имел тенденцию к повышению и незначительно снижался по окончании курса лечения и в стадии ремиссии.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что злоупотребление алкоголем сопряжено с развитием дисфункций метаболических

систем иммунокомпетентных клеток, которые в той или иной степени нивелируются проводимой больным терапией с применением Трамелана и остаются на таком уровне в периоде ремиссии.

Была проведена оценка в сыворотке крови больных трех цитокинов: ИЛ-1-бета, ИЛ-2 и ИЛ-4. Определение интерлейкинов осуществляли в остром периоде развития алкогольного психоза, по окончании курса приема Трамелан и через 2 недели в состоянии ремиссии. В остром периоде заболевания как у мужчин, так и женщин имел место резкое повышение продукции исследованных цитокинов. В результате назначения терапевтических мероприятий с применением Трамелана, все больные были выведены из этого состояния, почувствовали улучшение общего состояния. Таким образом, проведенная терапия в значительной степени снижала выраженность гиперпродукции исследованных интерлейкинов, однако степень снижения разных интерлейкинов была неодинаковой.

Таким образом, в результате проведенного комплекса исследований показано:

1. Сухая биомасса *Trametes pubescens*, являющаяся активной субстанцией БАД «Трамелан», содержит иммуномодулирующие 1,3-β-глюканы.

2. БАД «Трамелан» по данным медико-биологических исследований обладает иммуотропной и гемостимулирующей активностью.

3. БАД «Трамелан» в клинических исследованиях при использовании в комплексной терапии алкоголизма обладает выраженными иммунокорректирующими свойствами, что проявляется восстановлением до нормы клеточных и гуморальных факторов иммунной системы, способствует положительной динамике, вплоть до нормализации, таких составляющих иммунной системы как содержание в крови CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов и циркулирующих иммунных комплексов (интерлейкинов ИЛ-1-бета, ИЛ-2 и ИЛ-4), улучшает поглотительную и секреторную функцию фагоцитирующих клеток

4. Терапевтический курс БАД «Трамелан», направленный на выведение больных алкоголизмом из острого периода заболевания, по-разному влияет на происходящие в этих условиях изменения со стороны иммунной системы мужчин и женщин.

5. Отмечена высокая степень переносимости и безопасности препарата, и готовность пациентов принимать его в качестве компонента комбинированной терапии данного заболевания.

Работа проведена при поддержке программы «Старт» Фонда содействия развитию МП НТС.

ЛОНГОЛИТИН – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

*Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н., Подорольская Л.В.,
Неумывакин Л.В., Хромов И.С.*

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Институт генетики РАН
Москва*

Тромболитические ферменты — естественные патогенетические препараты лечения тромбозов, сопровождающих тяжелые сердечно-сосудистые заболевания и их осложнения: инфаркт миокарда, инсульт, атеросклероз, тромбоэмболия легочной артерии. Тромболитической активностью, т.е. способностью гидролизовать фибрин (основа тромба) обладают многие протеолитические ферменты, однако несомненный интерес представляют те из них, которые, являясь компонентами живых организмов (высших, низших, растительных, животных), имеют в качестве субстрата фибрин или аналогичные фибриллярные белки крови. Ранее нами было показано, что такие протеазы синтезируются в низших сапрофитных грибах *Trichotecium roseum* и *Arthrobotris longa* и выделяются в культуральную среду при культивировании. Эти ферменты, названные трихолизин (триаза) и лонголитин обладают многими полезными биологическими свойствами, в том числе тромболитической функцией.

Данное сообщение посвящено проектируемому лекарственному препарату лонголитин, предназначенному для наружного применения лечения поверхностных тромбозов.

Экспериментальные тромбы, полученные в яремной вене у крыс и в краевой вене кроликов смазывали препаратом лонголитин и определяли время и скорость растворения тромбов у всех животных и биохимические параметры гемостаза и фибринолиза у части крыс. Препарат применяли либо в чистом виде по сравнению с контролем (глицерин), либо совместно с гепарином (для профилактики ретромбоза) по сравнению с контролем (гепарин).

Смазывание тромбов одним лонголитином увеличивало скорость тромболиза и 10–13 раз у крыс и в 5–6 раз у кроликов по сравнению со спонтанным лизисом в контроле. Добавление гепарина потенцировало лизис в 1,7 раза у крыс и в 2,3 раза у кроликов, что подтверждало *in vivo* возможность комплексообразования лонголитина и гепарина, изученные ранее *in vitro*. Показано, что в качестве основы для лекарственной формы наружного применения гидрофильные гели предпочтительнее жировых наполнителей. Во всех случаях биохимические параметры гемостаза и фибринолиза в системном кровотоке не изменялись,

демонстрируя локальный эффект лонголитина, инициируемый только присутствием тромботических масс.

Полученные данные предполагают возможность создания на основе лонголитина тромболитического препарата для лечения наружных тромбов в комплексе с малыми дозами гепарина.

Глава 8

НОВЫЕ ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ И ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ЧАЙНОГО ГРИБА

Авакян А.Д.

*Армянский государственный аграрный университет
Ереван, Армения*

Культура чайного гриба в быту в основном используется как тонизирующее средство и лечебно-профилактическое в народной медицине. Культуральная жидкость чайного гриба подавляет рост и развитие патогенных бактерий, вирусов, грибов, продуцирует ферменты, витамины группы В, С, Д, снижает в крови концентрацию аммиака и аминов, уровень холестерина и радиации, канцерогенных и токсичных веществ.

Данная работа посвящена изучению эффективности применения в птицеводстве, относительно дешевого, экологически чистого препарата бактерицидина (культуральной жидкости чайного гриба)-продукта двух комбинированных брожений, вызываемых ассоциирующими в симбиозе микроорганизмами — дрожжами и уксуснокислыми бактериями. Бактерицидин сложного состава, обладает широким спектром антибактериального действия, био- и иммуностимулирующими свойствами, антиоксидантной активностью.

Задачей наших исследований являлось изучение его влияния на показатели естественной резистентности, сохранности и продуктивности кур-несушек в ранний период яйценоскости, биостимуляции кур-несушек бактерицидином на некоторые физиологические показатели их потомства, а также изменения морфологических показателей периферической крови, естественной резистентности, сохранности и живой массы здоровых и больных пуллорозом-тифом цыплят.

В результате исследований впервые установлено профилактическое действие бактерицидина в суточной дозе 6 мл/кг живой массы с биологической активностью 40 ед. разведения на организм кур-несушек при температурных стресс-факторах. Куры-несушки, раннего периода яйценоскости получавшие бактерицидин в дозе 6 мл/кг живой массы в течение 10 дней в осенне-зимний период преодолевают барьер сезонности яйцекладки. Яйценоскость повышается в 1,82 раза, а в весенне-летний период, при даче в течение 3 дней — в 1,75 раза, при 100% сохранности. Отмечается высокая бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови кур-несушек. Интенсивно нарастает количество естественных антител в сыворотке крови, переходящих в желток, превышающих контрольный вариант в 1,81–3,08 раза, наряду с высокими показателями фагоцитарной активности лейкоцитов. Бактерицидин повышает инкубационные качества яиц. Единица Хау в зависимости от дозы составляет в среднем 81–84, при контрольной — 79.

Регистрируется высокий процент оплодотворенности яиц, стимуляция физиологических функций эмбрионов, выводимость и вывод кондиционных цыплят с низкими показателями инкубационных отходов особенно из яиц кур периода отмены дачи препарата. Напряженный неспецифический иммунитет кур-несушек передается потомству. Уровень материнских антител у цыплят опытных групп выше контроля в 2 и более раза, элиминация которых происходит в течение 10–15 дней, в то время как в контрольной – 7 дней. Отмечается лучшее усвоение внутриутробного желтка, интенсивный рост и развитие, при высокой степени сохранности, указывающая на жизнестойкость цыплят.

Бактерицидин оказывает умеренно стимулирующее влияние на кроветворные органы и макрофагальную систему организма цыплят 1–120 дневного возраста. Наиболее оптимальной является средняя доза бактерицидина (0,6–0,3–0,15мл/голову), при которой наряду с повышением количества эритроцитов, лейкоцитов и содержания гемоглобина на 17,6–31,4%, 13,6–28,2%, и 9,1–34,4% соответственно, наблюдаются высокие показатели титра естественных антител, а также фагоцитарной активности, роста, развития и сохранности.

Установлена высокая лечебно-профилактическая эффективность бактерицидина в суточной дозе 0,6–0,3–0,15 мл/голову, при пуллорозе-тифе цыплят, по сравнению с контрольной группой, получавшей фуразолидон. Бактерицидин способствует быстрой нормализации гематологических показателей больных цыплят, повышению иммунологической реактивности и их сохранности. В опытных группах сравнительно быстро исчезает гипохромная анемия, (к 40 дню исследования), чем у цыплят фуразолидоновой группы (к 70 дню). Стимулируется рост и развитие переболевших цыплят, особенно при суточной дозе 0,6–0,3–0,15 мл/голову. Интенсивное накопление живой массы к 60-дневному возрасту, практически не отличается от таковой здоровых цыплят. Создается также возможность сдачи птицы на убой раньше сроков убойного возраста, в результате чего предотвращается экономический ущерб от пуллороза-тифа цыплят. Сохранность цыплят при всех дозах бактерицидина по ереванской породе составляет 90–100 %, а кросса «Заря-17» – 82,6–93 %, при контрольной – 43,5–50 %.

Экономическая эффективность применения оптимальной дозы бактерицидина в основном рационе кур-несушек кросса «Заря-17» в расчете на 1 драмм затрат составила 4,38 драмм.

Механизм лечебно-профилактического и биостимулирующего действия бактерицидина, в условиях действия на организм неблагоприятных факторов окружающей среды (гипо- и гипертермии, патогенной микрофлоры), наряду со стереотипной иммунной реакцией организма на раздражитель, обуславливается высокой чувствительностью к нему возбудителя, а также и его сложным химическим составом, являющимся результатом жизнедеятельности микроорганизмов-симбионтов: ук-

суснокислых бактерий и дрожжей, т. е. его про- и пребиотическими свойствами.

Известно, что микрофлора желудочно-кишечного тракта птицы состоит из множества микроорганизмов, основными из которых являются лактобациллы, бифидобактерии и бактероиды, составляющие около 90,0% всей нормальной микрофлоры. Нормальная микрофлора является фактором защиты от патогенных возбудителей, в том числе и сальмонелл, поскольку вырабатывает множество веществ, действующих на патогены (молочная кислота, комплексы сахаров, антибиотикоподобные соединения, летучие жирные кислоты, ацидофилин и пр.).

Однако, температурный стресс, смена рациона питания, перегруппировки, вакцинации, антибиотикотерапия неизбежно отражаются на микробиологическом балансе в желудочно-кишечном тракте и сдвигают его в сторону патогенной или условно-патогенной микрофлоры. При таких нарушениях кишечный баланс может быть восстановлен с помощью необходимых бактерий, дополнительно вводимых с пищей. Принцип замещения нежелательных бактерий конкурирующими с ними полезными известен как принцип пробиотиков, механизм действия которых заключается не только в онтогонизме к патогенным и условно патогенным микроорганизмам кишечной флоры, но и в активации защитных функций организма, благодаря поступлению в организм различных органических кислот, ферментов, биологически активных соединений и др. Использование пробиотиков в птицеводстве позволяет сократить отход птицы в первую неделю жизни, полностью блокирует потери от *E. coli* и *S. pullorum*, улучшает использование корма и интенсивность роста птицы, улучшает внешние (скорлупа) и внутренние (высота белка, желтка, Ед. Хау) качества яиц, оздоравливает стадо в целом. Эффект действия пробиотиков, в отличие от антибиотиков не столь сильный, но длительный. Этим объясняется положительное влияние бактерицидина не только в период дачи препарата, но и в особенности после его отмены. В качестве пребиотика, являясь селективным субстратом для развития собственных микроорганизмов-симбионтов, культуральная жидкость чайного гриба стимулирует рост и развитие полезных микроорганизмов.

Таким образом к многообразным положительным свойствам культуральной жидкости чайного гриба – бактерицидина, можно добавить также про- и пребиотические свойства. При оптимальных дозах в рационе кур-несушек и цыплят, в том числе больных пуллорозом-тифом, он способствует интенсивной мобилизации защитно-приспособительных механизмов организма к различным стресс-факторам (низкой и высокой температуре, возбудителям инфекционных заболеваний-сальмонеллезам).

ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ МИЦЕЛИЯ *GANODERMA LUCIDUM*: БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА

Автономова А.В.¹, Белицкий И.В.¹, Исакова Е.Б.¹, Евсенко М.С.²,
Седакова Л.А.², Усов А.И.³, Трещалина Е.М.³, Тихонов В.П.³,
Бухман В.М.¹, Краснопольская Л.М.¹

1—ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН

2 — Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского

3 — НИИ ЭДuТО ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

4 — ОАО Завод экологической техники и экопитания «ДИОД»
Москва

Ganoderma lucidum (Curt.:Fr.) P. Karst. — трутовик лакированный, один из наиболее известных базидиальных грибов, используемых в лечебных целях с давнего времени. Большинство работ по поиску и выделению биологически активных веществ из *G. lucidum* проведены с использованием плодовых тел. В результате разработаны многочисленные запатентованные формулы биологически активных добавок на основе плодовых тел гриба. Несмотря на то, что общий объем публикаций, посвященный *G. lucidum*, чрезвычайно велик, в нем мало работ по исследованию биологической активности вегетативного мицелия. Не известны работы по установлению противоопухолевого действия препаратов мицелия *G. lucidum* при их пероральном введении. Открытым остается вопрос о соотношении противоопухолевых свойств полисахаридов мицелия и плодовых тел *G. lucidum*.

Ранее в опытах *in vivo* нами было показано противоопухолевое действие водных экстрактов погруженного мицелия *G. lucidum* в отношении мышинной асцитной Т-лимфомы EL-4 при внутривентральном введении. Противоопухолевый эффект выражался в торможении роста массы опухоли и увеличении продолжительности жизни лабораторных животных. При совместном применении водного экстракта и однократной дозы циклофосфида (ЦФ) было показано взаимное усиление действия. Пероральное введение тех же неочищенных водных экстрактов не показало самостоятельной противоопухолевой активности в отношении солидной Т-лимфомы EL-4. Выделенные из водных экстрактов погруженного мицелия *G. lucidum* две полисахаридные фракции проявили самостоятельный противоопухолевый эффект, а также значительное усиление действия ЦФ при совместном введении с этим препаратом. Обе фракции продемонстрировали снижение прививаемости опухоли, потенцирование действия ЦФ, фракция 2 проявила значительное самостоятельное ингибирующее действие на рост опухоли.

В настоящей работе основное внимание было уделено усовершенствованию технологии получения водорастворимых полисахаридов, включающей в себя повышение эффективности погруженного культивирования *G. lucidum* и модификацию методов экстракции полисахаридов, и дальнейшее изучение противоопухолевых свойств получаемых препаратов. С учетом того, что обе полисахаридные фракции обладали противоопухолевым действием, в дальнейших опытах испытывали объединенную фракцию (ОПСХ-м), получаемую по разработанной методике экстракции и очистки. Повышение эффективности погруженного культивирования *G. lucidum* состояло в изучении роли источников азота в образовании целевых метаболитов.

Одним из важных вопросов, решаемых в этом исследовании, являлся сравнительный анализ моносахаридного состава и противоопухолевого действия полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел предварительно отобранного штамма *G. lucidum*. Для разрешения этого вопроса была разработана усовершенствованная технология получения плодовых тел, основанная на использовании в качестве промежуточной культуры погруженного мицелия. В результате было получено ускорение образования плодовых тел в среднем на 3–4 недели, в сравнении с описанными методиками. Из мицелия и плодовых тел, полученных в результате погруженного культивирования по оптимизированной схеме и модифицированной технологии получения базидиом, были приготовлены водные экстракты и выделены объединенные полисахаридные фракции ОПСХ-м и ОПСХ-п, соответственно. Изучение состава ОПСХ-м и ОПСХ-п показало, что эти фракции содержат полисахариды и белки. Количество чистых полисахаридов составляло около 50%. Моносахаридный состав полисахаридных составляющих полученных ОПСХ-м и ОПСХ-п был сходен, различаясь тем, что водорастворимые полисахариды мицелия содержали рамнозу. Полученные результаты выявили также различия в содержании глюкозы и галактозы. Более высокое содержание глюкозы было отмечено в водорастворимых полисахаридах плодовых тел, галактозы - в водорастворимых полисахаридах мицелия. Качественный и количественный состав моносахаров в полисахаридной составляющей ОПСХ-м соответствовал суммарному составу двух полисахаридных фракций, изученных ранее, и оставался стабильным во всех партиях ОПСХ-м, полученных в течение всех проведенных процессов культивирования.

Противоопухолевое действие различных доз ОПСХ-м было изучено *in vivo* при пероральном введении на четырех перевиваемых опухолевых линиях: Т-лимфоме EL-4, Т-клеточном лимфолейкозе P388, аденокарциноме Ca 755 и саркоме 180. Опухоли EL-4, P388 и Ca755 были привиты гибридным мышам B6D2F1, опухоль C180 была привита мышам линии BALB/c. ОПСХ-м обладала выраженным противоопухолевым эффектом в отношении всех изученных опухолей. Наибольший противоопухолевый эффект был отмечен при введении препарата в дозе

2 мг/кг/сутки. На 7 сутки после окончания лечения торможение роста опухоли Са755 составило 88%, торможение роста саркомы 180 на последний день введения препарата было 71% , на 2 сутки после окончания лечения торможение роста Т-лимфомы Р-388 составило 79%.

Сравнительное изучение противоопухолевого действия ОПСХ-м и ОПСХ-п было проведено в опытах *in vivo* на мышах с привитым солидным лимфолейкозом Р388, при пероральном введении. Противоопухолевый эффект оценивали по торможению роста опухоли.

Полученные результаты выявили противоопухолевый эффект ОПСХ-м и ОПСХ-п, который выражался в следующих значениях ТРО: на 10 сутки опыта – 80% и 87%, на 14 сутки опыта – 62% и 48%, на 17 сутки опыта – 44% и 59%, соответственно. Результаты этого эксперимента показали, что объединенные полисахаридные фракции мицелия и плодовых тел одного штамма, несмотря на установленные некоторые различия в моносахаридном составе, обладают равным противоопухолевым действием. Следует подчеркнуть, что пероральное введение ОПСХ-м и ОПСХ-п в дозе 2 мг/кг/сутки достоверно тормозили развитие опухоли после окончания курса лечения. Приведенные значения ТРО определены на 10–17 сутки опыта, в то время как введение препарата было закончено на 6 сутки.

Для установления действующего начала водных экстрактов и ОПСХ-м, объединенная полисахаридная фракция мицелия была подвергнута разделению на фракцию, содержащую очищенные полисахариды (ДППСХ) и белковую фракцию, содержащую следовые количества полисахаридов (БФ). Эти фракции, а также фракция, полученная из оставшегося после выделения ОПСХ-м водного экстракта (ЛПСХ), были испытаны на противоопухолевую активность в отношении лимфолейкоза Р388. Было установлено, что выраженным противоопухолевым эффектом обладала фракция ДППСХ. К эффекту, показанному очищенными полисахаридами, был близок эффект, который оказывала исходная фракция ОПСХ-м. ДППСХ и ОПСХ-м продемонстрировали торможение роста опухоли и увеличение продолжительности жизни мышей. На 24 сутки опыта в группе мышей, которым вводили ДППСХ, было живо 50% животных, в группе ОПСХ-м – 30%, в контроле роста опухоли – 10%. Белковая фракция и ЛПСХ не показали противоопухолевого эффекта. Таким образом, было доказано, что действующим началом наших препаратов, обладающим противоопухолевыми свойствами, являются полисахариды.

В докладе обсуждаются возможные подходы к усилению противоопухолевого действия создаваемых препаратов за счет разработки композиций с экстрактами других лекарственных базидиальных грибов.

***PHALLUS IMPUDICUS* (L.: PERS), *HERICIUM ERINACEUS* (BULL.: FR) PERS И *TRAMETES VERSICOLOR* (FR.) QUEL – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ**

**Бабицкая В.Г.¹, Щерба В.В.¹, Филимонова Т.В.¹, Рожкова З.А.¹,
Поединок Н.Л.², Трухоновец В.В.³, Осадчая О.В.¹**

1 – Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

2 – Институт ботаники НАН Украины, Киев

3 – Институт леса НАН Беларуси, Гомель

Фармакологическое действие лекарственных грибов отличается большим многообразием. Они обладают антимикробными, адаптогенными, иммуностимулирующими, седативными и другими свойствами, используются в качестве гипотензивных, капиллярукрепляющих, противоязвенных, противораковых и других средств. При этом лекарственные грибы имеют те существенные преимущества, что при их употреблении человек получает целый комплекс родственных организму соединений, не обладающих куммулятивными свойствами.

В свете сказанного закономерно, что лекарственные грибы и получаемые из них лечебно-профилактические препараты используются для лечения и профилактики практически всех заболеваний человека, в том числе таких широко распространенных и наиболее опасных, как сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные, нервные и другие болезни различной этиологии, а также злокачественные новообразования.

В последнее время в литературе все чаще появляются сообщения о таких грибах, как веселка обыкновенная (*Phallus impudicus*), гериций шиповатый (*Hericium erinaceus*). Установлено, что спектр действия этих грибов весьма широк. Однако данные об их составе практически отсутствуют.

Большой интерес представляют и грибы рода *Trametes*, в частности, траметес разноцветный (*T. versicolor*), также обладающие широким спектром биологического действия. Полученные на его основе препараты усиливают клеточный иммунитет, обладают антивирусным и антибактериальным действием, способствуют дезинтоксикации организма и т.д. В Японии *T. versicolor* явился основой создания препарата «Крестин» (PSK), в Европе – биологически активной пищевой добавки. Препараты на основе *T. versicolor* рекомендованы спортсменам США и Португалии для укрепления иммунной системы, предназначены также для иммунокоррекции и лечения вирусных и онкологических заболеваний домашних животных. В России на основе грибов рода *Trametes* создана лечебно-профилактическая пищевая добавка «Трамелан».

Целью наших исследований явилось изучение биохимического состава плодовых тел веселки обыкновенной и глубинного мицелия гри-

бов *H. erinaceus* и *T. versicolor*, выращенных на пивном сусле (1:3) и среде, основу которой составляет молочная сыворотка.

Плодовые тела веселки собраны в Гомельской области Беларуси.

При выращивании в колбах на качалке и ферментерах биомасса грибов составляет 10,0–11,5 г/л (*H. erinaceus*) и 20,0–23,0 г/л (*T. versicolor*), содержание полисахаридов во всех грибах – 13,0–16,5% (фенолсерно-кислотный метод определения) и 6,0–8,0% (весовой метод) (табл. 1).

Характерной особенностью грибов является синтез достаточно высокого количества экзополисахаридов. Содержание липидов в глубинной биомассе мало зависело от состава среды культивирования. Однако большее количество фосфолипидов обеспечивает молочная сыворотка. Наличие в липидах изученных грибов достаточно высокого содержания фосфолипидов еще более повышает их ценность. Фосфолипиды – сложные липиды, напоминающие по химической структуре обычные масла. В отличие от последних, фосфолипиды содержат полярную группу фосфорной кислоты с различными заместителями. Наличие полярной группы и определяет уникальность биологических свойств этих соединений, которые рассматриваются как мощное средство для повышения резистентности организма.

Табл. 1. Физиологически активные соединения грибов

Культура	Белок, %		Полисахариды		Липиды, %	Фосфолипиды, %		Эргостерин, %	
	общий	истинный	эндо-, %	экзо-, г/л		в липидах	в биомассе	в липидах	в биомассе
<i>Phallus impudicus</i>	26,0	15,0	14,3	–	1,5	8,7	0,52	5,4	0,4
<i>Hericium erinaceus</i>	30,0	16,0	13,0	5,5	6,0	11,3	0,8	10,6	0,5
<i>Trametes versicolor</i>	32,0	17,0	16,5	8,5	5,5	26,9	1,8	4,3	0,3

Исследование жирно-кислотного состава липидов выявило закономерность, присущую большинству базидиальных грибов – преобладание полиеновых кислот (табл. 2).

Табл. 2. Жирно-кислотный состав липидов грибов

Кислота	<i>Phallus impudicus</i>	<i>Hericium erinaceus</i>	<i>Trametes versicolor</i>
C14:0	сл.	3,14	7,68
C15:0	2,96	1,12	2,79
C16:0	11,56	20,76	18,28
C16:1	2,37	сл.	3,91
C17:0	1,78	сл.	сл
C18:0	0,88	4,72	2,78
C18:1	20,45	3,67	10,38
C18:2	60,00	66,59	54,18
К _{ненасыщенности}	4,82	2,36	2,17

Экстракты грибов обладают высокой антиоксидантной активностью: 80,0–85,0% (*H. erinaceus* и *T. versicolor*) и 90,0–91,0% (*P. impudicus*) по отношению к ионулу.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ГРИБОВ *FLAMMULINA* *VELUTIPES* И *GANODERMA LUCIDUM*

*Бабицкая В.Г.¹, Трухоновец В.В.², Осадчая О.В.¹, Рожкова З.А.¹,
Филимонова Т.В.¹, Черноок Т.В.¹*

1 – Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

2 – Институт леса НАН Беларуси, Гомель

Стремительное развитие грибоводства в мире обусловлено рядом причин. Это, в первую очередь, высокое содержание в грибах белков, витаминов, микроэлементов. Грибы обладают лечебными свойствами и, наконец, это – самая высокоурожайная сельскохозяйственная культура. Из-за ухудшения общей экологической ситуации и техногенного загрязнения окружающей среды сбор дикорастущих грибов в последнее время очень ограничен. Грибы активно накапливают в своих плодовых телах ионы тяжелых металлов, радионуклиды и другие вредные вещества. Именно поэтому во многих странах мира отказались от сбора дикорастущих грибов, в большом количестве выращивая целый ряд одомашненных видов: шампиньон, вешенку, кольцевик, опенок летний и др. Технологии культивирования съедобных грибов экологически чистые и безотходные. По мнению специалистов в области культивирования грибов, XXI столетие будет знаменовать «зеленую революцию»,

так как съедобные грибы и продукты из них займут достойное место. В мире насчитывается около 2 тысяч видов съедобных шляпочных грибов, являющихся сырьем для производства целого ряда нутрицевтиков, лекарственных и косметических препаратов. Сегодня производят свыше 5 млн т съедобных грибов на сумму более 10 млрд долларов США. Первое место среди них занимает шампиньон (37,6%), затем виды рода вешенка (16,8%), шии-таке (16,2%), и т.д.

Япония – основной производитель шии-таке и рейши. Здесь же освоено промышленное производство фламмулины бархатистой (зимнего гриба). Со стран Дальнего Востока (Китай) начинается свою историю вольвариелла (соломенный гриб). В настоящее время в Японии, Китае, Индонезии, Бирме, Тайланде, Индии и других странах ее культивируют на рисовой соломе. Таким образом, Дальний Восток и Юго-Восточная Азия являются родиной культивирования большинства съедобных грибов, растущих на древесине. И только вешенку обыкновенную впервые начали выращивать в Европе (в Германии) в начале XX столетия.

Возрос интерес к выращиванию грибов и в Беларуси. Однако грибоводство в республике находится на стадии становления и не в состоянии удовлетворить растущий спрос на грибную продукцию. Ежегодные объемы производства съедобных грибов составляют 300–400 т, что в 30 раз меньше минимальных годовых потребностей республики в этой деликатесной продукции. Выращивается всего 2–3 вида. Поэтому одной из самых актуальных задач республиканского грибоводства является ускорение темпов развития промышленного выращивания съедобных грибов в масштабах страны. Наибольший интерес в последнее время в Беларуси проявляется не только к вешенке, но и к таким грибам как рейши и зимний опенок.

Рейши (*Ganoderma lucidum*) – в природе распространен в относительно теплых регионах умеренного пояса и южнее. В Беларуси обнаружен в Беловежской пуше, Минской, Гомельской и Витебской областях. На Востоке на протяжении многих веков плодовые тела трутовика лакированного используют для приготовления лечебных средств, повышающих устойчивость организма к инфекционным заболеваниям, снижающих риск возникновения онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний и др. Лекарственный эффект достигается за счет стимуляции иммунитета организма хозяина полисахаридами и полисахарид-белковыми комплексами гриба.

Зимний опенок (*Flammulina velutipes*) – источник ценных питательных и биологически активных веществ широкого спектра действия. Обладает антиоксидантной, антиаллергической активностью, синтезирует фермент с фибрино- и тромболитической активностью, гриб обладает антимикробными, антифунгальными свойствами.

Рейши выращивали на субстратах, состоящих из дубовых, осиновых опилок и отрубей (соотношение 9:1), опенок зимний – на осиновых опилках и отрубях (соотношение 3:1 и 6:1). Поскольку при определе-

нии показателей использовали не только шляпки, но и ножки грибов, в таблицах приводятся средние показатели.

Как следует из таблицы, оба штамма *F. velutipes* лучше росли на субстратах при соотношении осинового опилка-отруби 3:1. Общий белок составлял 26,0–28,0%, истинный 15,0–17,5% (штамм №81), 23,0–25,0% и 13,0–15,0% (штамм № 208). Полисахариды достигали 13,0–13,8%, липиды – 8,5%. Фосфолипиды составляли 0,9–1,4%, эргостерин – 0,6–0,7%.

Что же касается гриба *G. lucidum*, то наибольшие показатели для обоих штаммов отмечены на дубовых опилках и отрубях (9:1). Общий белок достигал 22,0–26,0%, истинный – 14,0%, полисахариды – 9,0–14,0%, липиды – 7,0–7,5%. Фосфолипиды в этих образцах составляли 0,6–0,7%, эргостерин – 0,5–0,6% от абсолютно сухой биомассы.

Плодовые тела грибов содержали значительное количество фенольных соединений. У *F. velutipes* их количество достигало 400–1000 мг%, у *G. lucidum* – 1900 мг%. Лучшими по этому показателю оказались *F. velutipes* штамм 208 и *G. lucidum* штамм 335. Экстракты плодовых тел грибов обладали высокой антиоксидантной активностью, которая у *F. velutipes* составляла 63–82%, у *G. lucidum* – 76–93%. Изучение жирно-кислотного состава липидов обоих грибов выявило преобладание полиеновых жирных кислот. Их состав практически не зависел от субстратов культивирования.

Проведенные исследования показали перспективность выращивания грибов *F. velutipes* и *G. lucidum* в искусственных условиях с целью получения лечебно-профилактических препаратов.

Таблица. Физиологически активные соединения в плодовых телах грибов *F. velutipes* и *G. lucidum*, % в биомассе

Субстрат	Белок		Полисахариды	Липиды	Фосфолипиды	Эргостерин
	общий	истинный				
<i>F. velutipes</i> 81						
Осиновые опилки+отруби (6:1)	23,5–26,0	13,5–16,0	11,0–13,8	6,0–7,5	0,7	0,4
То же (3:1)	26,0–28,0	15,0–17,5	10,5–13,0	7,0–8,5	0,9	0,6
<i>F. velutipes</i> 208						
То же (6:1)	22,0–24,0	11,5–14,0	11,0–13,0	5,5–7,0	1,0	0,4
То же (3:1)	23,0–25,0	13,0–15,0	9,0–10,0	7,0–8,5	1,4	0,7

<i>G. lucidum</i> 333						
Дубовые опилки+ отруби (9:1)	20,0–22,0	12,0–14,0	6,0–9,0	5,0–7,0	0,6	0,5
Осиновые опилки+ отруби (9:1)	19,0–20,0	10,0–13,0	5,0–8,0	5,0–6,0	0,3	0,4
<i>G. lucidum</i> 335						
Дубовые опилки+ отруби (9:1)	24,0–26,0	12,0–14,0	12,0–14,0	7,0–7,5	0,7	0,6
Осиновые опилки+ отруби (9:1)	22,0–23,5	11,0–13,0	7,0–9,0	5,0–6,0	0,4	0,5

***HERICIUM ERINACEUS*: БИОТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА**

***Белицкий И.В.¹, Автономова А.В.¹, Исакова Е.Б.¹, Леонтьева М.И.¹,
Баканов А.В.¹, Усов А.И.², Бухман В.М.¹, Краснопольская Л.М.¹***

*1 – ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков
им. Г.Ф Гаузе РАМН*

*2 – Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского
Москва*

Hericium erinaceus (Bull.:Fr.) Pers. – ксилосапротрофный культивируемый съедобный базидиальный гриб, известный своими лечебными свойствами. Работы по изучению биологической активности *H. erinaceus* в основном посвящены исследованию его низкомолекулярных метаболитов, характеризующихся цитотоксическими свойствами, способностью стимулировать образование факторов роста нервов. Существуют единичные публикации, представляющие собой результаты получения биополимеров плодовых тел и вегетативного мицелия *H. erinaceus* и изучения их гипополипидемических и иммуномодулирующих свойств.

В настоящей работе суммированы результаты комплексного изучения морфологии, пищевых потребностей, закономерностей роста на плотных средах и в погруженной культуре, процесса плодообразования *H. erinaceus*, а также выделения фракций водорастворимых полисахара-

ридов мицелия, определения их моносахаридного состава и противоположных свойств *in vivo* при пероральном введении.

Особое внимание было уделено разработке способа выращивания *H. erinaceus* на плотных средах. Это связано с тем, что культивирование съедобных грибов и грибов-продуцентов биологически активных веществ на плотных средах является важным стартовым этапом биотехнологических процессов их выращивания, во многом определяющих эффективность последних и, в то же время, зачастую недооцениваемым исследователями. Изучение пищевых потребностей *H. erinaceus* позволило предложить ряд плотных сред, обеспечивающих высокую скорость роста, стабильность морфологических показателей, интенсивное накопление погруженной биомассы при последующем погруженном культивировании. По мнению авторов, наибольшую ценность имеет рецептура плотной питательной среды, отвечающей вышеперечисленным условиям и характеризующейся постоянством химического состава. Добавление в среду лигноцеллюлозных субстратов и их отдельных фракций в отдельных случаях приводило к ускорению вегетативного роста, однако не являлось правилом. Выявлены лигноцеллюлозные препараты, не оказывающие действия на рост мицелия, но индуцирующие переход к генеративной фазе.

На сегодняшний день погруженное культивирование *H. erinaceus* изучено крайне слабо. Задачей этого раздела исследования была разработка способа погруженного культивирования *H. erinaceus*, обеспечивающего накопление воздушно-сухой биомассы не менее 20 г/л в возможно короткие сроки. Поставленная цель была достигнута, благодаря ранее сформулированной нами стратегии создания эффективных биотехнологических способов погруженного культивирования мицелиальных грибов. Центральным моментом предложенного способа погруженного культивирования *H. erinaceus* явилась разработка качественного и количественного состава питательной среды с использованием методов математического планирования экспериментов. Разработанный способ погруженного культивирования *H. erinaceus* обеспечивает получение 22–23 г/л воздушно-сухой биомассы за 7 суток.

Из полученного по разработанной методике погруженного мицелия *H. erinaceus* были приготовлены водные экстракты. Экстракцию проводили кипящей водой. Общее содержание водорастворимых полисахаридов определяли с помощью фенол-сернокислотного метода. Было показано, что полученные экстракты содержат в среднем 8–10 мг /мл экстракта, что соответствует их содержанию в мицелии на уровне 13–14%. Следует отметить, что *H. erinaceus* отличался от других исследуемых нами видов лекарственных базидиальных грибов более низким содержанием водорастворимых полисахаридов. Из водного экстракта мицелия *H. erinaceus* были выделены две фракции, обогащенных полисахаридами, различающимися степенью растворимости в воде. Изучение моносахаридного состава полисахаридов двух фракций выявило наличие шести моносахаридов: глюкозы, галактозы, арабинозы, ман-

нозы, ксилозы, рамнозы. Фракции имели одинаковый качественный состав моносахаридов, однако различались их соотношением.

Противоопухолевое действие водных экстрактов мицелия *H. erinaceus* и его полисахаридных фракций изучали на двух перевиваемых солидных опухолях: Т- лимфоме EL-4, Т-клеточном лимфолейкозе Р388. Опухоли были привиты гибридным мышам BDF1 (C57B1/6J x DBA/2)F1, самцам. Изучаемые препараты вводили перорально. В опытах с лимфомой EL-4 в день 0 мышам подкожно инокулировали 105 опухолевых клеток, с лимфолейкозом Р388 – 106 клеток. Суточная доза введения водного экстракта погруженного мицелия *H. erinaceus* была 0,3 мл препарата на мыш, суточная доза введения полисахаридных фракций водных экстрактов мицелия составила 2 мг/кг. В отдельных группах мышам, привитым опухоли, однократно вводили циклофосамид (ЦФ) в низкой дозе 50 мкг/кг внутривенно. В течение опытов следили за общим состоянием мышей, изменением массы тела, изменением массы опухоли и выживаемостью мышей. Рассчитывали торможение роста опухоли (ТРО) в процентах по формуле: $ТРО = (СМОк - СМОо) / (СМОк) \times 100\%$, где СМОк и СМОо – средняя масса опухоли в контроле и опыте.

В результате было показано, что водный экстракт мицелия *H. erinaceus* при пероральном способе введения обладает выраженным статистически достоверным самостоятельным противоопухолевым действием в отношении обеих изученных опухолей. Противоопухолевое действие заключалось в торможении роста опухоли и удлинении жизни лабораторных животных. Так, на 19 сутки опыта (8 сутки после окончания лечения) количество выживших мышей с привитым Т-клеточным лимфолейкозом Р388 и получивших курс лечения водным экстрактом мицелия *H. erinaceus* составило 70%, в то время как этот показатель в контроле составил 30%. В этом опыте ТРО под влиянием перорального введения водного экстракта мицелия *H. erinaceus* на 15 сутки составило 65,0%. В опыте на лимфоме EL-4 было показано взаимное потенцирование противоопухолевого действия водного экстракта мицелия и ЦФ. ТРО на 18 сутки опыта составило в группе, получавшей водный экстракт 58,0% , в группе, однократно получившей ЦФ – 92,0%, в группе, получившей комплексное лечение – 99,9%.

Выделенные полисахаридные фракции мицелия *H. erinaceus* при пероральном способе введения обладали выраженным статистически достоверным самостоятельным противоопухолевым действием в отношении лимфолейкоза Р388, что выражалось в торможении роста опухоли и удлинении жизни лабораторных животных. Противоопухолевые активности изучаемых фракций были сходны. Так, на 22 сутки опыта количество мышей в группах, получавших водный раствор полисахаридных фракций 1 и 2, составило 80% и 90 %, соответственно, а в контрольной группе – 50%.

ВЛИЯНИЕ Na-ИУК НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ШТАММА M-81 *HIRSCHIOPORUS LARICINUS* (*KARST.*) *RYV.*

Бойко М.И.

*Донецкий национальный университет
Украина*

Одной из актуальных проблем и важным звеном в обеспечении населения продуктами питания является поиск среди дереворазрушающих грибов — продуцентов протеиназ сычужного действия и внедрение перспективных продуцентов в технологию для получения молокосвертывающего фермента в качестве заменителя сычужного фермента животного происхождения.

Экзогенные фитогормоны в оптимальных концентрациях стимулируют рост и синтез белков, повышают активность ферментов у ряда микроорганизмов, грибов и растений. В литературе имеются данные о влиянии ИУК на проницаемость клеточных мембран (Кефели, 1974; Гамбург, 1976; Полевой, 1989; Трошина, Гоготов, 1992 и др.). Можно предположить, что Na-ИУК будет положительно влиять на выделение в среду культивирования грибом *Hirschioporus loricinus* протеиназ молокосвертывающего действия.

В связи с этим нами проведены исследования влияния различных концентраций Na-ИУК и сроков ее внесения в среду на молокосвертывающую активность (МСА) культурального фильтрата *H. loricinus*. Нами исследовалось влияние Na-ИУК в концентрациях 2,5 мг/л и 5 мг/л на молокосвертывающую активность культурального фильтрата гриба-продуцента. Контролем служила среда, которая не содержала ауксина.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исследованные концентрации Na-ИУК по-разному влияют на МСА культурального фильтрата. Так, на 5-е сутки роста гриба на среде, содержащей 2,5 мг/л Na-ИУК, активность протеиназ молокосвертывающего действия культурального фильтрата находилась на уровне контрольного варианта, так как достоверного отличия между средними величинами не выявлено. В свою очередь Na-ИУК в концентрации 5 мг/л вызывала достоверное ингибирование активности МСА культурального фильтрата.

На 10-е сутки развития штамма M-81 *H. loricinus* концентрация Na-ИУК 2,5 мг/л вызывала достоверное повышение активности молокосвертывающего фермента, а при росте гриба на среде с 5 мг/л Na-ИУК активность фермента была на уровне контрольного варианта.

На 15-е сутки роста *H. loricinus* активность фермента на среде с 2,5 мг/л натриевой соли индолилуксусной кислоты находилась на уровне контроля, а Na-ИУК в концентрации 5 мг/л вызывала достоверное

повышение активности протеиназ молокосвертывающего действия. Такая же закономерность обнаружена у гриба – продуцента протеиназ молокосвертывающего действия и на 20-е сутки. Наивысшая активность фермента обнаружена на 15-е и 20-е сутки культивирования гриба на среде, содержащей Na-ИУК 5 мг/л, которая составляла от 2,01 до 2,12 мин, против контроля – 2,55–2,66 мин соответственно. На 25-е сутки развития гриба на средах с Na-ИУК активность фермента молокосвертывающего действия несколько понизилась и составляла 2,83 и 2,59 мин соответственно. Постепенное снижение активности протеиназ в культуральном фильтрате гриба наблюдалось и на 30-е сутки его культивирования.

Таким образом, можно предположить, что разное воздействие исследованных концентраций Na-ИУК на МСА на ранних и поздних этапах культивирования гриба связано с возрастными особенностями гриба, его адаптацией к вносимому веществу. Для проверки этого предположения нами проведены опыты по введению Na-ИУК на разных этапах развития гриба. Для этого в опытные колбы наливали не по 50 мл питательной среды, как в контроле, а по 49 мл. Затем на 5-е, 9-е, 11-е и 16-е сутки роста гриба с помощью стерильного шприца вводили в опытные колбы по 1 мл раствора, содержащего столько Na-ИУК, чтобы ее концентрация составляла соответственно 2,5 и 5 мг/л. МСА культурального фильтрата определяли через сутки после внесения Na-ИУК. Достоверные различия между вариантами опыта обнаруживались при внесении Na-ИУК на 5-е, 9-е и 11-е сутки культивирования. При этом при концентрации ауксина 2,5 мг/л МСА была достоверно выше, чем при 5 мг/л.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что введение Na-ИУК в питательную среду с мицелием продуцента в 5-и суточном возрасте вызывало значительное повышение активности молокосвертывающего фермента, чем в контрольном варианте. Причем разность активности фермента между опытными вариантами и контролем составляла от 0,74 до 1,15 мин. Связано ли влияние Na-ИУК на проницаемость мембран клеток мицелия гриба или на повышение активности фермента, однозначно ответить пока затруднительно.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ ПЕКТОЛИТИЧЕСКОГО И МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Бойко С.М., Филиппова Ю.О.

Донецкий национальный университет
Украина

Многие высшие базидиальные грибы используются как продуценты коммерчески важных веществ. Во многих странах мира, таких как Япония, Германия, Франция, США высшие базидиальные грибы рассматривают как ценное сырье для получения биологически активных веществ, используемых при создании лечебно-профилактических средств широкого спектра действия, в пищевой, деревообрабатывающей промышленности и др.

В последнее время все большее внимание привлекают высшие базидиальные грибы, осуществляющие в природе деструкцию таких сложных биополимеров, как целлюлоза, гемицеллюлозы, лигнин, пектиновые вещества. Отдельные их виды являются перспективными для получения более высококачественной целлюлозы (*Coriolus hirsutus*, *Fomitopsis annosa*, *Ganoderma applanatum*, *Phellinus igniarius*), а также в качестве продуцентов пектиназ, которые находят свое применение в биотехнологии, в пищевой промышленности, при производстве вина, соков.

Изучение протеолитической активности высших базидиомицетов представляет несомненный интерес, так как позволяет получить более полную картину их биохимической деятельности. Кроме того, острый дефицит протеолитических ферментов стимулирует развернутые исследования по поиску новых продуцентов протеиназ.

Объектами наших исследований были культуры К-1, I-6 гриба *Irpex lacteus* Fr. и CS-1 гриба *Coriolus sinuosus* Fr. выделенные из естественных насаждений Донецкой области. Культуры выращивали на стандартной глюкозо-пептонной среде, при оптимальных для роста гриба температурах и кислотности питательной среды. Культивирование осуществлялось в течении 25 суток. Через каждые 5 суток определяли активность эндополигалактуроназы (ПГС/В) вискозиметрическим методом и молокосвертывающую активность (МСА) культурального фильтрата. За единицу пектолитической активности, принимали количество фермента, которое в строго определенных условиях при температуре 30° С за 10 мин катализирует гидролиз 1 г пектина со снижением вязкости раствора на 30%. Изменение молокосвертывающей активности культурального фильтрата фиксировали с применением методики Каваи и Мукаи.

Эксперименты проводились в трехкратной повторности. Полученные данные подвергались статистической обработке, включающей дисперсионный анализ и метод множественного сравнения средних величин.

В результате проведенного эксперимента удалось установить, что все изучаемые культуры проявили способность к синтезу пектолитических ферментов. Направленность изменения динамики ПГС/В сходна для культур *I. lacteus* и отличается от *C. sinuosus*. Так для штаммов К-1 и I-6 *I. lacteus* характерно постепенное накопление пектолитических ферментов в культуральной жидкости, с достижением максимума их активности на 10 сутки (0,021 и 0,020 г/мл соответственно). Далее с 15 по 25 сутки наблюдается постепенное падение активности до значения 0,013 и 0,016 г/мл соответственно. Для культуры CS-1 *C. sinuosus* характерна иная картина изменения активности эндополигалактуроназы. Максимальные значения активности наблюдаются на 5 и 10 сутки (0,005 г/мл) с дальнейшим падением до 0,001 г/мл на 25 сутки.

Исследуемые культуры относятся к сапротрофным дереворазрушающим грибам и поэтому для них является характерным синтез пектолитических ферментов. Достаточно низкое значение активности для культуры CS-1 может быть объяснено тем, что для многих дереворазрушающих грибов глюкоза вызывает неспецифичную катаболитную репрессию биосинтеза пектиназы, но при этом не наблюдается ингибирование ее каталитических свойств.

Что касается МСА, то здесь наблюдается противоположная картина. Культура CS-1 *C. sinuosus* показала высокое и стабильное значение молокосвертывающей активности, колеблющееся с 5 по 20 сутки в пределах 209-233 ед/мл. Лишь на 25 сутки наблюдается ее снижение до 149 ед/мл. Для культур К-1 и I-6 *I. lacteus* характерна более плавная динамика МСА, при которой максимум приходится на 10 сутки (203 и 216 ед/мл соответственно), а далее с 15 по 25 сутки идет снижение до значений 9 и 37 ед/мл соответственно.

Таким образом, изучаемые штаммы продемонстрировали способность к синтезу ферментов пектолитического и молокосвертывающего действия. Изучение пектолитических свойств требует дальнейшего подбора компонентов углеродного питания. Культура CS-1 *C. sinuosus* является ценным биотехнологическим объектом, так как способна быстро синтезировать ферменты молокосвертывающего действия и поддерживать их активность в течении всего периода культивирования.

ОБРАЗОВАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ АНТИБИОТИКОВ С АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Борисова Н.А., Бибикина М.В., Спиридонова И.А., Катлинский А.В.
ФГУП Государственный научный центр по антибиотикам РФ
Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

Настоящее время характеризуется распространением туберкулеза, смертность от которого в мире составляет около 3 миллионов человек в год, а инфицировано около трети населения планеты. Широкое распространение болезни остро ставит вопрос об остановке болезни до того, как она превратится в глобальную эпидемию. Значительные сложности в лечении туберкулеза связаны с широким распространением вариантов возбудителя с множественной устойчивостью к традиционно используемым противотуберкулезным препаратам, что определяет необходимость широкого поиска новых эффективных соединений основанных на изучении геномики возбудителя и выявлении новых перспективных мишеней для лекарственного воздействия на *Mycobacterium tuberculosis*.

Большая часть генома *Mycobacterium tuberculosis* кодирует синтез 5 типов жирных кислот (от C16-C18 до C50-C90), входящих в состав клеточной стенки. Миколовые кислоты содержатся также у близких в таксономическом отношении представителей родов *Nocardia sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* Установлено наличие миколовых кислот у плазмодиев (*Cryptosporidium sp.*, *Leishmania sp.*, *Toxoplasma sp.*, *Tripanosoma sp.*).

Мутации, затрагивающие синтез жирных кислот с короткой цепочкой, обычно не отражаются ни на росте, ни на чувствительности микобактерий к лекарственным средствам. Подавление же миколовых кислот сопровождается микоцидным эффектом, хотя и отмечается широкое распространение штаммов, устойчивых к изониазиду, ингибирующему синтез этих кислот. Предполагается, что новые ингибиторы синтеза миколовых кислот могут иметь большое клиническое значение.

Нами был проведен скрининг продуцентов антибиотиков, среди 82 штаммов мицелиальных грибов, способных как избирательно подавлять рост кислотоустойчивых бактерий, так и проявлять гипополипидемические свойства. Были отобраны три штамма, продуцирующие гидрофобные гипополипидемические соединения с высокой активностью в отношении кислотоустойчивых бактерий.

Ферментацию грибных культур осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с объемом питательной среды (А-9) 100 мл при 24° С на подвесной качалке с круговым вращением и оборотами от 3,3с⁻¹ до 4,3 с⁻¹ в течение 14 суток. По окончании биосинтеза антибиотический

комплекс извлекали из мицелия ацетоном, концентрировали на вакуум-выпарной установке (ИР-1) и частично очищали, получая реэкстракт в хлороформе, который отделяли от водной фазы с последующим удалением растворителя.

Антифунгальную активность экстрактов из мицелия микроорганизмов определяли методом диффузии в агар в отношении *Aspergillus niger* 137a и *Candida albicans* ATCC 885-653. Активность препаратов в отношении бактерий *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* Var *mycoides luteus* 537 определяли методом диффузии в агар.

Определение активности в отношении кислотоустойчивых бактерий проводили на агаризованной и жидкой средах БТН№1. В качестве тест-организмов использовали штаммы *Mycobacterium parafortuitum* 306, 314, М.sp. 2307, *Rhodococcus* sp.451.

Культуры растили на скошенном агаре БТН№1 в течение 3 суток при 37°С. Готовили суспензию клеток в дистиллированной воде, разбивали стеклянными бусами. В среду перед засевом культуры вносили Тритон 80 в количестве 0,05%. В среду вносили суспензию клеток из расчета 10б. на мл среды. Культуры растили 1–3 суток при 37°С. Активность на агаризованной среде определяли по величине зон подавления. Активность соединений в жидкой среде в конце опыта оценивали по индексу гидролиза диацетата флуоресцина (ФДА «Sigma»). С этой целью 0,01% р-р ФДА добавляли к опытным пробиркам в конце опыта в соотношении 1:10, выдерживали в термостате в течение 1 часа. Биомассу отфуговывали. Определяли экстинцию на спектрофотометре при 480 нм.

В результате проведенных исследований были отобраны грибные культуры Г-16, Г-25 и Г-52. Ранее было установлено, что эти штаммы продуцируют соединения, ингибирующие синтез эргостерола у грибных тест-культур и синтез холестерина и триглицеридов у кроликов. При определении антибиотической активности только комплексный препарат Г-16 в концентрации 100 мкг/мл проявлял активность в отношении *A. niger* 137, *C. albicans* ATCC 885-653, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* Var *mycoides luteus* 537

Комплексные препараты Г-16, Г-25 и Г-52 проявляли активность в отношении кислотоустойчивых бактерий. МПК препаратов на агаризованной среде составляли 50 мкг/мл ; в жидкой среде – 5–10 мкг/мл. Высев из жидкой среды свидетельствует о бактерицидности исследуемых соединений, что предполагает их действие на синтез миколовых кислот.

Изучали совместное действие отобранных веществ и рифампицина в отношении кислотоустойчивых бактерий. Синергизма ингибирующего действия обнаружено не было.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРИБОВ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ДРЕВЕСНЫХ ОСТАТКОВ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ

Волчатова И.В., Медведева С.А.

Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

В естественных условиях древесные остатки и, особенно, пни срубленных деревьев разлагаются десятки лет. Биологическое разложение древесины – результат совокупного действия организмов, образующих ксилотрофные сообщества, важнейшими группами которых являются микроорганизмы, в частности, грибы, и беспозвоночные животные. Деятельность последних, лишенных ферментных систем, расщепляющих лигнин, выражается лишь в механическом измельчении древесины. Поэтому ведущее место в деструкции древесины имеют грибы, выступающие в природных экосистемах единственными организмами, обеспечивающими данный процесс. Способность грибов к разложению и использованию органических элементов субстрата в качестве источника питания имеет не только теоретическое, но и серьезное практическое значение. Эту способность, в частности, можно использовать для разрушения и удаления пней срубленных деревьев в городских экосистемах без ущерба для окружающей среды и привлечения специальной техники. Целью данного исследования был скрининг лигнин- и целлюлозоразрушающих грибов для локального уничтожения пней срубленных деревьев в условиях урбанизированных экосистем.

Для работы были отобраны 11 дереворазрушающих культур из числа выделенных из природной среды и хранящихся в музее лаборатории природных синтонов и лигандов ИрИХ СО РАН. опыты проводили на древесине тополя – древесной породы, чаще всего используемой для озеленения Иркутска и других близлежащих городов. Древесину, распиленную на диски высотой около 1 см, после стерилизации обрабатывали грибными инокулятами, выращенными на жидкой питательной среде. Образцы выдерживали во влажных условиях, при температуре 26° С в течение пяти с половиной месяцев. По истечении этого срока счищали мицелий, высушивали образцы до воздушно сухого веса, измельчали. В исходной древесине и после грибной обработки определяли влажность, содержание целлюлозы, лигнина, золы. Потерю массы древесины (ПМД) рассчитывали по ее зольности: $ПМД = 1 - S_0/S$, где S_0 и S – зольность нормальной и пораженной ксилотрофом древесины соответственно. Потерю ее отдельных компонентов рассчитывали с учетом ПМД. Коэффициент селективности действия грибов находили по формуле: $I_s = C/(C + L)$, где C и L – потери целлюлозы и лигнина соответственно.

При равных сроках культивирования грибов ПМД изменялась от 38,8 до 89,2% (таб.).

Изменение содержания компонентов древесины тополя в результате микогенного ксилотолиза

Культура	Потеря массы древесины, %	Потеря компонентов, %		Индекс ксилотолиза (Is)
		лигнин	целлюлоза	
<i>Polyporus versicolor</i>	67,4	66,7	69,0	0,51
<i>Sporotrichum pulverulentum</i>	63,8	62,8	68,6	0,52
<i>Fomitopsis pinicola</i>	63,0	7,8	68,1	0,90
<i>Trametes hirsuta</i>	50,7	49,5	51,5	0,51
<i>Trametes villosus</i>	89,2	89,8	92,2	0,51
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	77,3	76,2	77,9	0,51
<i>Cephalosporium sp.</i>	74,5	74,0	77,6	0,51
<i>Penicillium citreo-viride</i>	57,2	53,2	73,7	0,58
<i>Fomes fomentarius</i>	53,9	52,6	60,6	0,54
<i>Penicillium funiculosum</i>	38,8	37,8	47,5	0,56
<i>Trichoderma lignorum</i>	54,3	58,2	63,2	0,52

Максимальной ПМД была в результате воздействия штамма *Trametes villosus*. Визуальный осмотр образцов, проведенный сразу же после окончания инкубирования, также выявил заметное преимущество *T. villosus*: мицелий этого гриба интенсивнее других колонизировал диски со всех сторон. Древесина при этом была очень рыхлой и легко расслаивалась по годичным слоям.

Химический анализ показал, что грибы, за исключением *Fomitopsis pinicola*, практически в равной степени утилизировали как лигнин, так и целлюлозу. Индекс ксилотолиза, количественно характеризующий тип разложения древесины, незначительно варьировал в области 0,51–0,58, свидетельствуя о коррозионном типе ксилотолиза.

Таким образом, показано, что с помощью базидиомицета *Trametes villosus* за 5–6 месяцев можно практически полностью и без привлечения токсичных для людей и окружающей среды химикатов разрушить древесину тополя – одного из широко распространенных древесных растений, используемых для озеленения городов. Возможность таких мероприятий особенно актуальна в старых городах, требующих удаления больных и отмирающих деревьев и замены их новыми посадками.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЛАНИНОВОГО ПИГМЕНТА ГРИБА *INONOTUS OBLIQUUS*

Иконникова Н.В.¹, Смирнов Д.А.¹, Капич А.Н.², Бабицкая В.Г.¹,
Щерба В.В.¹

1 – Институт микробиологии НАН Беларуси

2 – Международный государственный экологический университет
им. А.Д. Сахарова
Минск

В народной медицине для лечения заболеваний различной этиологии с давних времен нашли применение наросты на березах, известные под названием «чага». Современная медицина активно использует препараты из чаги в качестве общеукрепляющего, противовоспалительного и обезболивающего средства с высокими гастропротекторными, цито- и онкостатическими свойствами.

С биологической точки зрения наросты чаги представляют собой бесплодную (стерильную) стадию развития трутового гриба *Inonotus obliquus* (Pers.) Pill. В последнее время данный гриб активно изучают в качестве продуцента биологически активных веществ, в том числе темных пигментов полифенольной природы – меланинов [1].

Меланиновые пигменты обладают антиоксидантными, гено- и радиопротекторными, иммуномодулирующими, гепатопротекторными свойствами, характеризуются высокой активностью связывания ионов тяжелых металлов, обусловленной большим разнообразием функциональных групп, способных взаимодействовать с катионами металлов [2,3].

Изучение предпочтительности сорбции ионов тяжелых металлов, наиболее распространенных поллютантов, меланинсодержащей биомассой *I. obliquus* В-26 позволило расположить их в следующий ряд: $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Zn^{2+} > Ni^{2+}$. Предпочтительность в сорбции ионов тяжелых металлов для чистого меланина *I. obliquus* В-26 представлена следующим образом: $Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Ni^{2+}$. Наблюдались незначительные различия в величине сорбирующей активности по ионам свинца и меди у изолированного пигмента. Меланинсодержащей биомассой и чистым меланином *I. obliquus* В-26 связывалось до 2,0 и 2,4 мг-экв/г ионов свинца, соответственно.

Определенная селективность в отношении ряда ионов тяжелых металлов, которую проявляет глубинная биомасса меланинсинтезирующего базидиомицета *I. obliquus* В-26 и выделенные из нее чистые препараты пигментов, может стать перспективной основой для получения эффективных энтеросорбентов для организма человека и животных.

Исследование антиокислительных свойств меланинового пигмента *I. obliquus* В-26 проводили в реакции пероксидазного окисления аминобифенилов. В качестве окисляемых субстратов использовали бензидин (БД) и его метильные производные – диметилбензидин (ДМБД),

тетраметилбензидин (ТМБД). Показано, что с увеличением числа метильных заместителей наблюдается снижение эффективности ингибирования процесса пероксидазного окисления аминобифенилов в ряду: БД — ДМБД — ТМБД.

С целью изучения генопротекторных свойств меланина *I. obliquus* В-26 было исследовано влияние пигмента на процесс повреждения ДНК фага λ продуктами пероксидазного окисления дианизидина. При его концентрации в реакционной смеси $3 \times 10^{-5} \text{M}$ достигалось 100%-ное повреждение ДНК.

Концентрация пигмента *I. obliquus* В-26, уменьшающая число перекрестных сшивок ДНК-ДНК в 2 раза, составила 6,0 мкг/мл. В концентрации 20 мкг/мл меланин гриба полностью предотвращал этот процесс.

Исследование антимутагенной активности грибных меланинов на самцах мышей линии «Аf» показало, что внутрибрюшинное введение пигмента *I. obliquus* В-26 в дозе 50 мг/кг веса животного снижает уровень радиоиндуцированных транслокаций в сперматоцитах в 2 раза.

Полученные результаты свидетельствуют о высоких антиоксидантных и генопротекторных свойствах меланина *I. obliquus* В-26 в условиях *in vivo* и *in vitro*, что может явиться основой создания средств для лечения и профилактики генетических и соматических эффектов хронического облучения.

Изучено влияние различных концентраций внутриклеточных и внеклеточных меланинов глубинного мицелия *I. obliquus* на фагоцитарную активность нейтрофилов в фагоцитарном тесте (Табл.).

Таблица. Влияние различных концентраций внутриклеточных и внеклеточных меланинов *I. obliquus* на фагоцитарную активность нейтрофилов

Фракция меланинов	Концентрация, мкг/мл	Фагоцитарное число
Контроль	—	1,95
Внеклеточные	50	2,58*
	100	1,92
	200	1,98
Внутриклеточные	50	2,63*
	100	2,05
	200	2,01

* - отличие от контроля статистически значимо при $p < 0,05$

Отмечено отсутствие выраженного усиления фагоцитоза при совместной инкубации нейтрофилов с раствором меланина и тест культурой (*Staphylococcus aureus*). В концентрации 50 мкг/мл как внеклеточный, так и внутриклеточный меланины вызывали некоторое статистически значимое увеличение интенсивности фагоцитоза. Причем, в случае

внутриклеточной фракции меланинов фагоцитарная активность была выражена несколько выше. Повышение концентрации меланинов приводило к снижению активности до уровня контроля, или даже ниже. Колебания показателя фагоцитарного числа при внесении обеих фракций меланинов в концентрациях 100 и 200 мкг/мл не превышали уровня статистической ошибки при $p < 0,05$.

Поскольку известно, что меланины, выделяемые из бесполой формы *I. obliquus* (чага) обладают иммуностимулирующим действием, вероятно, оно осуществляется не за счет прямого стимулирования нейтрофилов.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-ГФФИУ (проект № Б05К-016).

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СИНТЕЗ МЕЛАНИНА ГРИБАМИ *PHELLINUS ROBUSTUS* И *INONOTUS OBLIQUUS* В ПОВЕРХНОСТНОЙ КУЛЬТУРЕ

Иконникова Н.В., Бабицкая В.Г., Щерба В.В.
Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск, Беларусь

Грибные культуры *Phellinus robustus* и *Inonotus obliquus* продуцируют меланиновые пигменты как в поверхностной, так и глубинной культуре. Меланины обладают широким спектром биологического действия: антиоксидантными, гепатопротекторными, радиопротекторными, иммуномодулирующими, гепатопротекторными свойствами, что позволяет рассматривать их в качестве основы для создания лекарственных и профилактических средств [1,2].

При выращивании на жидких средах, при одинаковых условиях культивирования цвет биомассы может варьировать от светло-бежевого до темно-коричневого. При культивировании на агаризованных питательных средах видимые различия в окраске колоний, как правило, наблюдаются только в том случае, если изменяются условия эксперимента.

Изучение влияния температуры на рост различных штаммов *Ph. robustus* и *I. obliquus* и накопление меланина в биомассе проводили на агаризованной глюкозо-пептонной среде, в чашках Петри. В качестве инокулята использовали агаровые диски (радиус 2 мм), взятые с периферической части 5-ти суточных колоний. Чашки Петри инкубировали в суховоздушных термостатах при 18, 24 и 28°C в течение 30 суток, ежедневно измеряя диаметр колоний во взаимно перпендикулярных направлениях. Мицелий отделяли от агаризованной среды фильтро-

ванием после 3-х минутного кипячения в большом объеме дистиллированной воды. Экстракцию меланина осуществляли по стандартной методике [3].

Результаты исследования показали, что температура культивирования в пределах оптимума для мезофильных грибов (18–28° С) оказывает значительное влияние не только на скорость роста мицелия штаммов *Ph. robustus* и *I. obliquus*, но и на их пигментацию.

Штамм *Ph. robustus* М-10, выделенный в Беларуси, наиболее быстро рос при температуре 24° С, для штаммов К-1551, К-1695 и К-1730, выделенных в Украине, максимальные значения Кг отмечены при 28° С. Понижение температуры до 18° С значительно замедляло рост мицелия исследованных культур, при этом значения Кг снизились более чем в 2 раза (табл.1).

Табл. 1. Влияние температуры на рост различных штаммов *Ph. robustus* и содержание меланина в биомассе

Штамм	Температура, ° С	Кг, мм/сут.	Биомасса, мг/см ²	Меланин	
				% в биомассе	выход, мг/см ²
М-10	18	1,3	7,0	6,4	0,5
	24	3,1	19,8	14,2	2,8
	28	2,3	13,0	12,7	1,7
К – 1551					
	18	1,1	16,2	3,3	0,5
	24	2,4	16,0	9,1	1,5
	28	2,8	16,7	10,8	1,8
К – 1695					
	18	1,0	10,6	2,8	0,3
	24	2,2	13,0	6,5	0,9
	28	2,3	16,0	9,0	1,4
К – 1730					
	18	0,9	8,0	6,8	0,5
	24	1,8	8,6	8,9	0,8
	28	2,0	10,6	11,2	1,2

При наиболее благоприятных для роста грибов температурах были хорошо заметны штаммовые отличия. Штамм М-10 образовывал плотные, войлочные колонии ржаво-коричневого цвета (более молодой мицелий – светло-коричневый, охристый), с хорошо выраженной зональностью; реверзум – темнопигментирован, заметны пигментные зоны,

которые по мере старения культуры сливаются в единое целое. У К-1551, К-1695 колонии более рыхлые и пушистые по сравнению с М-10, коричневые, зональность практически отсутствует. У К-1730 колонии слабо опушенные, вначале светло-охристого цвета с серовато-зеленоватым оттенком.

Штаммы В-7 и В-26 образовывали морфологически схожие колонии: войлочные, густые, пушистые, светло-желтой окраски (молодой мицелий – белого цвета). У штамма В-26 реверзум темнопигментированный по всей поверхности, пигментация у В-7 была разреженной и менее интенсивная по окраске.

Для штаммов *I. obliquus* наиболее быстрый рост наблюдали при температуре 24°С.

При понижении температуры до 18°С значения Кг снижались более чем в 2 раза (табл.2).

Табл. 2. Влияние температуры на рост различных штаммов *I. obliquus* и содержание меланина в биомассе

Штамм	Температура, °С	Кг, мм/сут.	Биомасса, мг/см ²	Меланин	
				% в биомассе	выход, мг/см ²
В-26	18	1,0	8,1	5,2	0,3
	24	2,3	13,6	15,1	2,6
	28	2,0	8,6	12,3	1,5
В-7	18	0,9	7,9	3,7	0,2
	24	2,1	12,1	13,4	2,4
	28	2,0	10,3	11,0	1,5

Определение содержания меланина в мицелии показало, что воздействие температуры на синтез пигмента аналогично ее влиянию на скорость роста колоний (табл.1, 2). Наиболее высоким выходом пигмента отличались штаммы *I. obliquus* В-26 и *Ph. robustus* М-10, продуцирующие более 2,6–2,8 мг меланина с см² поверхности питательного субстрата, соответственно.

Таким образом, проведенные исследования показали, что из проверенных грибов наиболее перспективным производителем меланиновых пигментов в поверхностной культуре являются *Ph. robustus* М-10 и *I. obliquus* В-26 характеризующиеся быстрым ростом и высоким выходом пигмента при умеренных температурах.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-ГФФИУ (проект № Б05К-016).

ПОИСК МЕТАБОЛИТОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ С ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

*Исангалин Ф.Ш., Артюхин В.И., Лиховидов В.Е., Косарева Н.И.,
Коробова Н.А., Быстрова Е.В.*

*Федеральное государственное учреждение науки «Государственный
научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
(ФГУН «ГНЦПМБ»)
п. Оболенск, Московская область*

Энтомопатогенные грибы, являющиеся в природе паразитами членистоногих, в последние годы привлекают внимание не только с точки зрения создания инсектицидных препаратов, но и как продуценты активных метаболитов с фармакологическими свойствами. В середине прошлого века были открыты и изучены два антибиотика, синтезируемые этими грибами: кордицепин из гриба *Cordyceps militaris* Link, относящегося к семейству *Clavicipitaceae* и цефалоспорин, продуцируемый культурой *Cephalosporium acremonium*. Позднее, в 80-х годах из культуры почвенного гриба *Tolypocladium inflatum* был выделен антибиотик циклоспорин, нашедший применение в медицине. Понятно, что этими тремя антибиотиками не исчерпывается потенциал этой обширной группы грибов.

Задачей настоящей работы являлся поиск метаболитов с антибиотическими свойствами, продуцируемые природными штаммами энтомопатогенных грибов из семейства *Clavicipitaceae* и их анаморф. В качестве тест-объектов для определения активности использовали микроорганизмы бактериальной (*Staphylococcus aureus*) и грибной (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*) природы, являющиеся возбудителями болезней человека.

Поиск проводился по схеме: скрининг природных штаммов на активность – отбор активных штаммов – отработка режимов глубинного культивирования – наработка биомассы гриба – концентрирование и высушивание мицелия – экстрагирование из сухого мицелия органическими растворителями низкомолекулярных веществ – высушивание экстрактов и растворение их в метиловом спирте – определение активности экстрактов.

В работе использовали штаммы энтомопатогенных грибов из коллекции ГНЦ ПМБ.

Коллекционные штаммы пересевали на агаризованную среду Чапека+(с добавкой дрожжевого экстракта и пептона) и культивировали до образования сплошного воздушного мицелия и начала спорообразования. Биотестирование проводили путем вырезания блочков из агара с культурой, которые помещали на поверхность агара с односубстратной тест-культурой. Культуру считали активной, если зона просветления была не менее 15 мм.

Для глубинного культивирования в качалочных колбах были подобраны питательные среды на основе среды Сабуро, а также разработанные среды на основе дрожжевого экстракта, пептона, глюкозы и солей.

Экстракты из биомассы грибов тестировали не тех же тест-объектах методом диффузии в агаре используя либо лунки в агаре, либо диски из фильтровальной бумаги с нанесенным на них экстрактом.

Далее проводилось фракционирование экстрактов, показавших стабильную активность с целью выделения очищенных активных метаболитов. Фракционирование проводили различными хроматографическими методами.

Были проверены штаммы и экстракты энтомопатогенных грибов *Paecilomyces* (свыше 30), *Lecanicillium* (более 20), *Cephalosporium* (10), *Beauveria* (25).

Ряд культур и экстракты грибов *Paecilomyces* показали достаточно высокую активность на отдельных тест-культурах. Четыре штамма проявили активность на *Staphylococcus aureus*, 4 – на *Aspergillus niger*, 2 – на *Candida albicans*. Активность экстрактов в целом совпадала с активностью живых культур, но экстракты из 10 неактивных штаммов показали активность на *Staphylococcus aureus*.

Примерно половина штаммов грибов *Lecanicillium* проявили активность на *Staphylococcus aureus* и одна культура – на *Candida albicans*. Из десяти штаммов *Cephalosporium* два показали высокую активность на *Aspergillus niger* и один – на *Candida albicans*. Большинство штаммов *Beauveria* оказались активными на *Staphylococcus aureus*. Активность экстрактов из культуры этих грибов в целом коррелировала с активностью живых культур.

По результатам скрининга отобрано 4 штамма *Paecilomyces*, 2 штамма *Lecanicillium*, 3 штамма *Cephalosporium* и 3 штамма *Beauveria* с наибольшей активностью для проведения дальнейших работ по выделению из них активных метаболитов.

Выделены и охарактеризованы метаболиты из экстрактов *Paecilomyces* обладающие бактерицидной активностью на *Staphylococcus aureus*. Это одноцепочечные полиеновые молекулы с одной – тремя двойными связями и полярными карбоксильными группами с молекулярной массой 300–350. Эти соединения синтезируются определенными штаммами *Paecilomyces* в достаточно больших количествах при глубинном культивировании. Активность этих соединений на тест-культуре умеренная – 10–20 мкг/мл. Эти соединения неактивны на грамположительных бактериях и на грибных тест-культурах.

В настоящее время проводятся работы по выделению из экстрактов и характеристике других метаболитов, обладающих фунгицидной активностью.

Работа поддержана грантом ISTC # 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты».

НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ

Канюч А.Н.

*Международный государственный экологический университет
имени А.Д. Сахарова
Минск*

В настоящее время установлено, что в процессе жизнедеятельности в биологических системах разного уровня сложности могут образовываться свободные радикалы, которые обладают высокой реакционной способностью и повреждают белки, нуклеиновые кислоты и липиды, входящие в состав клеток. Предполагается, что свободнорадикальные реакции могут быть вовлечены в патогенез множества разных заболеваний. Особенно важную роль в развитии клеточных патологий играют процессы свободнорадикального (перекисного) окисления липидов (ПОЛ). Введение в организм природных или синтетических антиоксидантов позволяет затормозить развитие свободнорадикальных реакций, в том числе процессов ПОЛ в биомембранах. В связи с этим большую популярность сейчас имеет идея о целесообразности использования природных и синтетических ингибиторов реакций свободнорадикального окисления липидов, т.е. антиоксидантов, в качестве средств химической профилактики и защиты человека и животных от многих заболеваний. Особенно перспективным представляется использование для этих целей липофильных биоантиоксидантов, в частности биоантиоксидантов грибного происхождения, которые являются природными метаболитами и обладают низкой токсичностью.

Стационарность ПОЛ в биологических системах разного уровня сложности в норме обеспечивается физико-химической системой регуляции окислительных реакций в липидах мембран, параметрами которой является антиоксидантная активность (АОА), состав липидов мембран, их способность к окислению, структурные переходы в компонентах мембран и др. Важнейшее значение в жизнедеятельности организма имеет сохранение антиоксидантно/прооксидантного баланса. Динамическое равновесие в системе окисления-антиокисления является одной из сторон гомеостаза и во многом определяет физиологическое состояние, как отдельных клеток, так и целых сложных организмов. Нарушение этого равновесия в сторону активации ПОЛ и соответственно снижение антиокислительного потенциала связывают с развитием различных патологических состояний. При этом особое значение в исследованиях придается изучению уровня антиоксидантной защиты. В связи со всем вышеизложенным большое значение имеет разработка как адекватных методов определения уровня АОА индивидуальных химических соединений — потенциальных антиоксидантов, так и методов оценки суммарной АОА биологических жидкостей, гомогенатов тканей и других комплексных биологических материалов.

Об АОА химических соединений можно судить по их способности тормозить окисление разнообразных ненасыщенных липидов, в том числе жирных кислот или эфиров жирных кислот в модельных системах *in vitro*. Например, хорошо известен метод определения АОА индивидуальных веществ и липидов на метилолеатной окислительной модели. Тестирование АОА комплексных биологических материалов является более сложной задачей, поскольку помимо антиоксидантов они содержат в различных количествах низкомолекулярные вещества, которые могут как тормозить окисление модельных субстратов, так и ускорять его, причем в зависимости от их концентраций может меняться направление реакций. В клетках присутствует ряд веществ, которые, не являясь антиоксидантами, могут значительно изменять их активность (синергисты и антагонисты). Кроме того, в состав липидов клеток входят ненасыщенные жирные кислоты, которые сами являются субстратами окисления и следовательно могут существенно изменять кинетику модельных реакций и определяемые параметры. Исходя из того, что линолевая кислота является преобладающей в составе липидов кислотрофных базидиомицетов, нами было предложено использовать именно эту жирную кислоту в качестве субстрата окисления при тестировании АОА в экстрактах мицелия и культуральных жидкостях грибов.

Недавно нами было установлено, что культуральные жидкости кислотрофных базидиомицетов, вызывающих белую гниль древесины, в определенных условиях проявляют прооксидантные свойства. Прооксидантное действие культуральных жидкостей этих грибов заключается в том, что они способны инициировать перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, и в частности линолевой кислоты, преобладающей в мембранных липидах этих грибов. Как оказалось, основную роль в качестве прооксидантного агента играет лигнинолитический фермент марганец пероксидаза. Этот фермент катализирует окисление Mn^{2+} с образованием Mn^{3+} , который в хелатированном состоянии способен окислять фенольные соединения, входящие в состав лигнина. Предполагается, что именно трехвалентный марганец вызывает окисление полиненасыщенных жирных кислот в реакциях, катализируемых марганец пероксидазой.

В данной работе мы показываем, что модельная система, в которой перекисное окисление линолевой кислоты инициируется грибной марганец пероксидазой, может быть использована для определения АОА, как индивидуальных химических соединений, так и биологических жидкостей различного происхождения, в том числе экстрактов мицелия грибов. Как известно, ПОЛ происходит с поглощением кислорода. В реакционной смеси, включающей линолеовую кислоту, внесение марганец пероксидазы в присутствии ионов марганца вызывает поглощение кислорода, которое может быть зафиксировано оксиграфически с помощью электрода Кларка, встроенного в Оксиграф. Внесение индивидуальных химических соединений или экстрактов мицелия, обладаю-

ших АОА, ингибирует данную реакцию, в результате чего потребление кислорода в реакции снижается или полностью блокируется. С использованием данного метода определена АОА активность ряда фенольных соединений, а также экстрактов мицелия ксилотрофных базидиомицетов. В частности, в данной работе исследовали АОА спиртовых экстрактов мицелия гриба *Laetiporus sulphureus*. Антиоксидантные свойства экстрактов мицелия данного гриба были показаны ранее на метилолеатной окислительной модели, а также на модели автоокисления линолевой кислоты. При внесении 50 мкл спиртового экстракта мицелия гриба *L. sulphureus* в реакционную смесь, где перекисное окисление линолевой кислоты было инициировано марганец пероксидазой, наблюдали мгновенное блокирование реакции ПОЛ. Результаты, полученные в этих исследованиях, подтверждают наш вывод о том, что спиртовые экстракты мицелия гриба *L. sulphureus* обладают существенными антиоксидантными свойствами.

ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ ПРОТЕАЗЫ И НУКЛЕАЗЫ *RYRENOPHORA TERES DRECHS* И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Карпук В.В.
Белгосуниверситет
Минск

Фитопатогенный гриб *Drechslera teres* Ito. (анаморфа *Ryrenophora teres* Drechs.) способен расти на жидкой питательной среде достаточно простого состава. После внесения небольшого числа спор и фрагментов гиф в среду в ней образуются белые комочки мицелия, достигающие через 15 дней 3–10 см в диаметре, которые за последующее время культивирования до 30–45 дней не увеличивались и не начинали спороношения. Для инициации спорообразования требовалось освещение культур лампами дневного света 8–10 ч/сутки. Такое освещение вызывало образование зеленовато-серых конидий на поверхностях колоний, контактирующих с воздушной средой. Однако после третьего пересева полученных *in vitro* спор и кусочков мицелия на свежую питательную среду у гриба сохранялась способность к вегетативному росту, но исчезла способность к спорообразованию, которую не удавалось вызвать даже при освещении. Кроме того, после нескольких пересевов гриба на свежую среду снижалась способности каплей его культуральной жидкости при нанесении на листья восприимчивого сорта растения-хозяина — ячменя вызывать через 3–5 суток появление темных инфекционных пятен. Ранее нами показано, что инфекционная способность у гриба *P. teres* определяется комплексом секретируемых грибом веществ, среди которых важную роль играют экстрацеллюлярные протеазы,

РНказы и ДНказы [см.: Проблемы экспериментальной ботаники.— Мн.: Бел. наука, 1997, с. 185–199].

Протеазы начинают выделяться мицелием *P. teres* практически с начала его роста *in vitro* и секреция этих ферментов продолжается весь период культивирования гриба. Пики более активной секреции протеаз происходят волнообразно: на 4–5, 7–12, 15–17, 20–24 и 27–29 дни культивирования. Нуклеазы (РНказы и ДНказы) в культуральной среде *P. teres* обнаруживаются несколько позже — на 4–5 дни роста, показывая пики активности РНказ на 5–7 и 17–29 дни (т.е. на первых и последних этапах развития) и ДНказ — на 5–7 дни (второго пика активности не отмечено). Пики протеазных активностей (в качестве субстрата протеаз использовали казеин) в основном составляют 20–60 μ /мг тирозина; пики РНказ — 200–800 усл. ед./мл/мг белка; пики ДНказ — 150 % кислоторастворимого материала/мг белка. В весовом отношении по приблизительной оценке суммарная доля протеаз и нуклеаз может достигать 10–30% от всей массы экстрацеллюлярных белков. Эти ферменты отличаются от хозяин-специфичных и неспецифичных фитотоксинов по молекулярной массе и легко делимы.

Следовательно, культуральная среда *P. teres* представляет собой источник высокоактивных протеаз, РНказ и ДНказ, которые суммарно могут использоваться для борьбы с вирусными патогенами: например, в виде тампонов для наружной обработки герпетических язв, в виде влажных прокладок марлевых повязок для предохранения от заражения вирусными частицами в местах массового скопления людей, или иным образом.

ВЫСШИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE* И *LAETIPORUS SULPHUREUS* КАК ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

Линовицкая В.М.¹, Дзыгун Л.П.¹, Клечак И.Р.¹, Бухало А.С.²

*1 — Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт»*

*2 — Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины
Киев*

Современная биотехнология, используя опыт восточной и народной медицины, постоянно расширяет круг объектов природного происхождения, которые могут быть использованы в качестве как пищевых добавок, так и лекарственных препаратов. Одним из таких источников новых биологически активных веществ являются высшие базидиальные, и, в частности, дереворазрушающие грибы.

Примером использования грибов этой группы в медицинской биотехнологии являются базидиомицеты *Schizophyllum commune* и *Laetiporus sulphureus*. Так, из культурального фильтрата, полученного при культивировании *Schizophyllum commune*, выделяют экзополисахарид шизофиллан, обладающий противоопухолевыми, антимикробными, противовоспалительными и противовирусными свойствами. Высушенный мицелий *S. commune* может быть использован в качестве пищевой добавки с иммуномодулирующей, гепатопротекторной и онкостатической активностью. Высший базидиомицет *Laetiporus sulphureus* также содержит ряд биологически активных соединений (лектины, каротиноиды, ферменты и т.п.) и может быть использован в качестве пищевой добавки, обладающей антимикробным, антиоксидантным и радиопротекторным действием.

Исходя из вышеизложенного, представляет определенный научный и практический интерес проведение скрининга музейных и новых, выделенных из природной среды, штаммов *S. commune* и *L. sulphureus* с целью создания современных биотехнологий получения биологически активных веществ, в том числе используемых в медицинской практике.

На первом этапе были проведены работы по исследованию физиолого-биологических особенностей штаммов высших базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus* и *Schizophyllum commune* в условиях глубинного культивирования на питательных средах разного состава.

Объектами исследований были четыре штамма базидиомицета *Schizophyllum commune* Fr. (441, 1714, 1760 и 5009) и четыре штамма *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill (1518, 1774, 1772, 1773), полученные как из коллекции шляпочных грибов Института ботаники им.Н.Г.Холодного НАН Украины, так и изолированные авторами из плодовых тел, собранных в разных регионах Украины.

Глубинное культивирование во всех исследованиях проводилось в колбах Эрленмейера разного объема на качалке (160–170 об/мин) при температуре +28° С.

Определение влияния различных источников азота и углерода на интенсивность роста исследуемых штаммов проводили по методике предложенной Бухало (1988). При этом, для каждого варианта питательной среды в качестве единственного добавляемого источника углерода использовали одно из следующих веществ в концентрации эквивалентной 20 г глюкозы: инулин, ксилозу, лактозу, мальтозу, маннит, глицерин, крахмал, сахарозу, фруктозу или глюкозу. Азотсодержащие соединения (гистидин, лейцин, лизин, триптофан, NH_4NO_3 , NaNO_3 , NaNO_2 , NH_4Cl , пептон) вносились в концентрации эквивалентной 0,33 г/л азота. Влияние выбранных источников азота и углерода на рост исследуемых штаммов определяли по уровню накопления биомассы (весовым методом) на десятые сутки культивирования.

Было также проведено глубинное культивирование четырех штаммов *S. commune* на комплексных питательных средах, т.е. на синтетической

среде с глюкозой (15 г/л) [Бухало, 1988] с добавлением одного из компонентов: пептон – 10 г/л, кукурузный экстракт – 100 мл/л, мяеса – 100 мл/л, пивное сусло – 10 мл/л, экстракт кормовых дрожжей – 5 г/л. Отбор проб осуществляли каждые 12 часов в течение 10 суток. В отобранных образцах определяли количество биомассы весовым методом и содержание в культуральной жидкости полисахаридов.

В результате проведенных исследований роста четырех штаммов *L. sulphureus* и штамма *S. commune* 1760 на средах с различными источниками азота, было установлено, что у *S. commune* наибольшее количество биомассы накапливалось на средах с добавлением триптофана или пептона (концентрация биомассы 1,3 и 1,2 г/л соответственно). Минимальное количество биомассы наблюдалось на средах с добавлением NaNO_2 и NH_4NO_3 (0,3–0,4 г/л), что свидетельствует о преимущественном потреблении аминного азота. В то же время, для штаммов *L. sulphureus* высокий уровень накопления биомассы был отмечен не только в случае использования в качестве единственного источника азота пептона или лизина (например, для штамма 1773 концентрация биомассы составляла соответственно 15,8 г/л и 15,3 г/л), но и NaNO_3 или NH_4NO_3 (15,6 г/л и 14,2 г/л соответственно для того же штамма). При этом максимальное количество биомассы было получено для штамма 1773 на всех средах (3,9–15,6 г/л), и значительно меньшее содержание биомассы наблюдалось для штаммов 1518 (1,2–2,1 г/л), 1772 (2,9–7,0 г/л), 1774 (0,8–5,8 г/л), причем уровень накопления биомассы зависел от состава среды. Таким образом, базидиомицет *L. sulphureus* способен утилизировать более широкий спектр источников азота, чем *S. commune* – как аминный, так и в виде нитратов, нитритов и солей аммония.

При определении оптимального для получения биомассы источника углерода у двух исследуемых базидиомицетов также проявлялись видовые и штаммовые отличия. Для всех четырех штаммов *L. sulphureus* максимальное накопление биомассы значительно зависело от штамма и наблюдалось на среде с крахмалом (от 0,3 г/л для 1518 штамма до 18,9 г/л для 1773 штамма) и глюкозой (от 0,1 г/л для 1518 штамма до 18,8 г/л для 1773 штамма). При этом, для штамма *S. commune* 1760 наилучший результат был получен при использовании в качестве источника углерода фруктозы – 1,2 г/л биомассы.

Лекарственные свойства базидиального гриба *S. commune* в первую очередь обусловлены действием на иммунную систему экзополисахаридов. Поэтому нами также были проведены исследования влияния состава питательной среды на уровень накопления, как биомассы, так и полисахаридов в культуральной жидкости для четырех штаммов этого гриба.

Наиболее высокие показатели количества экзополисахаридов в культуральной жидкости наблюдались на средах с пептоном или с кукурузным экстрактом для всех изученных штаммов (5–8 г/л в зависи-

мости от штамма). Минимальная концентрация полисахаридов регистрировалась на средах с пивным суслом либо с глюкозой (0,3–0,6 г/л в зависимости от штамма). В то же время, максимальное накопление биомассы для всех штаммов (5,9 г/л для штамма 441 и 8,8 г/л для штамма 1760) отмечено на среде с мялясой, а минимальное (до 2,7 г/л) на среде с пивным суслом. Таким образом, для получения биомассы и экзополисахаридов оптимальной является питательная среда разного состава: с высоким содержанием углеводов (мяляса) для накопления биомассы и с повышенным содержанием ростовых веществ, углеводов и азотсодержащих соединений (кукурузный экстракт, пептон) для получения экзополисахаридов.

Для дальнейших исследований с целью создания новых биотехнологий получения, как пищевых добавок, так и биологически активных веществ с использованием высших базидиальных грибов *Laetiporus sulphureus* и *Schizophyllum commune* можно рекомендовать штамм *L. sulphureus* 1773 и штамм *S. commune* 1760. В качестве источников азота и углерода в средах для получения биомассы *L. sulphureus* предлагается пептон, либо нитрат натрия и крахмал. Для *S. commune* наилучшим источником азота является пептон, углерода – фруктоза, а также комплексная среда с добавлением мялясы для получения экзополисахаридов в условиях глубинного культивирования.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Лиховидов В.Е., Наумов А.Н., Ариповский А.В.

*Федеральное государственное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
(ФГУН «ГНЦ ПМБ»)*

п. Оболенск, Московская область

В последнее время в медицине, пищевой промышленности и в косметологии все шире используются биоактивные липиды, особенно эссенциальные, эйкозаполиеновые жирные кислоты. Продуцентами последних могут быть жиры некоторых видов промысловых рыб, семена определенных видов растений, а также микромицеты из различных таксонов. Есть мнение, что технология синтеза биоактивных липидов с использованием микромицетов имеет ряд преимуществ по сравнению с другими источниками получения ценных липидов (Конова и др., 2004). Водные грибы в этом отношении изучены крайне недостаточно. В связи с этим нами были изучены 20 штаммов водных грибов из рабочей коллекции ФГУН «ГНЦ ПМБ», принадлежащих к классам *Oomycetes* и *Chytridiomycetes*.

Основой исследований явилось определение весового содержания жирных кислот C11-C25 в высушенной биомассе водных грибов. Полученные в ходе экстрагирования грибной биомассы метиловые эфиры идентифицировали и методом капиллярной газожидкостной хроматографии определяли содержание жирных кислот в липидной фракции. При этом использовали качественные стандарты – смесь метиловых эфиров бактериальных жирных кислот «супелко» и смесь метиловых эфиров полиненасыщенных кислот «мортиерелла» («Биосинтез»). Количественное определение проводили методом внутреннего стандарта (фенилпальмитат).

В результате проведенных исследований получены следующие данные.

На хроматограммах стандартов ST-1 и ST-2 наблюдалась типичная картина разделения метиловых эфиров кислот C11-C20 на полярные и неполярные фазы. В экспериментальных хроматограммах легко идентифицировались основные жирнокислотные компоненты липидов. Количественное содержание индивидуальных жирных кислот в различных штаммах различно. Вместе с тем, жирнокислотный профиль разных штаммов имеет сходные черты (таблица).

Следует отметить, что в жирнокислотном профиле изученных штаммов водных грибов преобладают (в порядке снижения весового показателя) следующие жирные кислоты: арахидоновая (C20:4) – 20,0–36,0%; пальмитиновая (C16:0) – 15,0–28,0 %; линолевая (C18:2) – 12,0–22,0%; гамма-линолевая (C γ 18:3) – 5,1–14,0%; миристиновая (C14:0) – 4,6–12,0%.

По параметрам жирнокислотного состава изученные штаммы водных грибов сходны с почвенными грибами рода *Mortierella*. Последние являются наиболее известными продуцентами арахидоновой кислоты. Для биотехнологически ценных штаммов *Mortierella* характерно содержание арахидоновой кислоты в липидном составе, равное 30,0–40,0%. Обращает на себя внимание невысокое суммарное содержание липидов в биомассе водных грибов (2,6–6,0%). Это связано с тем, что исследуемые штаммы водных грибов культивировали без применения стимуляторов липогенеза и на самых простых питательных средах.

В целом результаты исследования доказывают возможность получения жирных кислот из водных грибов. Дальнейшие исследования будут направлены на разработку способов культивирования водных грибов для обеспечения максимального накопления липидов в биомассе микробиоты.

**Весовое содержание индивидуальных жирных кислот (%)
в липидах сухой биомассы водных грибов**

Номера штаммов	Жирная кислота											Сумма липидов
	C14:0	C16:1	C16:0	C α 18:0	C γ 18:3	C18:2	C18:1	C18:0	C20:4	C20:3	C20:1	
1/11	5,6	3,0	18,0	0	12,0	17,0	4,3	2,7	24,0	1,9	2,9	3,0
2/12	4,8	2,6	17,0	0,7	5,1	18,0	6,2	2,2	36,0	1,2	0,7	4,1
3/13	7,9	1,0	20,0	0	8,2	13,0	1,9	3,0	24,0	1,1	0,6	2,5
4/14	6,5	2,8	24,0	0	8,6	15,0	1,5	3,1	22,0	1,5	3,6	1,3
5/15	4,6	1,0	28,0	1,2	7,6	16,0	6,1	3,9	25,0	4,2	2,3	3,1
6/16	8,3	3,6	19,0	0	12,0	12,0	3,2	5,2	29,0	0,8	0	1,8
7/17	7,7	2,6	16,0	1,1	8,6	19,0	3,1	16,0	21,0	1,9	2,9	5,5
8/18	10,0	4,2	15,0	2,0	9,8	17,0	5,7	4,8	27,0	2,1	0	4,7
9/19	8,6	2,2	21,0	1,4	6,3	13,0	2,3	18,0	20,0	5,1	2,7	5,3
10/20	6, 7	1,6	18,0	1,3	9,4	21,0	4,2	5,5	27,0	2,7	2,6	4,1
11/21	8,0	3, 7	15,0	0,4	5,5	22,0	3,1	18,0	18,0	1,8	4,8	2,5
12/22	10,0	2,6	20,0	1,1	3,9	14,0	4,1	16,0	20,0	2,8	2,4	4,6
13/23	8,5	2,4	23,0	2,0	6,0	13,0	8,2	4,1	25,0	5,4	2,7	6,0
14/24	6,8	1,2	14,0	1,1	11,0	22,0	4,4	2,8	31,0	2,3	3,1	4,0
15/25	7,8	2,1	23,0	1,8	5,4	12,0	6,9	6,4	26,0	4,6	2,8	3,7
16/26	10,0	1,7	19,0	1,5	11,0	17,0	4,4	6,2	22,0	3,4	2,7	3,2
17/27	11,0	1,3	21,0	1,3	8,0	17,0	3,3	8,3	22,0	3,7	2,8	2,6
18/28	9,5	1,2	20,0	1,0	10,0	18,0	3,5	9,0	20,0	4,8	2,9	4,6
19/29	9,0	0,7	23,0	1,7	9,5	18,0	3,1	11,0	18,0	4,5	2,5	4,2
20/30	12,0	2,5	14,0	0,9	14,0	17,0	4,2	6,3	26,0	1,8	0,6	4,3

ФАГОЦИТОЗ-СТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ПОЛИСАХАРИДОВ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

*Смирнов Д.А., Бабицкая В.Г., Пучкова Т.А., Щерба В.В.
Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск*

Интерес к иммуностимулирующей терапии резко возрос в последние годы и связан с проблемами инфекционной патологии и онкологии. Лечение и профилактика, основанные на вакцинации, действенны при ограниченном числе инфекций. Введение сывороток или иммунных лимфоцитов оказывается эффективным только на ранних этапах инфекционного процесса. Кроме того, сами вакцины в определенные фазы иммунизации способны подавлять сопротивляемость организма к инфекциям. В связи с быстрым увеличением числа возбудителей, обладающих множественной устойчивостью к антимикробным средствам, антибиотиковая терапия также становится все менее эффективной. Все это делает актуальной проблему разработки иммуномодуляторов. Сюда относятся препараты химической или биологической природы, способные стимулировать или подавлять реакции иммунитета в результате воздействия на иммунокомпетентные клетки, на процессы их миграции или на взаимодействие таких клеток. Известно, что полисахариды, выделяемые из плодовых тел высших базидиальных грибов, способны стимулировать иммунный ответ организма. Иммуотропное действие полисахаридов глубинной культуры грибов практически не изучено.

Целью работы было изучение способности полисахаридов глубинного мицелия дереворазрушающих грибов *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* и *Crinipellis schevzenkovi* влиять на фагоцитарную активность нейтрофилов.

В работе использовали штаммы грибов, хранящиеся в коллекции микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Внутриклеточные полисахариды получали согласно методике, внеклеточные. Водорастворимую фракцию внеклеточных полисахаридов готовили растворением навески экзополисахарида в дистиллированной воде. Нерастворившийся осадок отделяли и растворяли в 10% NaOH – щелочерастворимая фракция. Фагоцитарную активность определяли *in vitro* по фагоцитозу нейтрофилами крови человека тест-культуры *Staphylococcus aureus*. Полисахариды грибов инкубировали с кровью доноров в присутствии тест-культуры в течение 20 мин. В эксперименте с предварительной инкубацией тест-культуру вносили после инкубации в течение 30 мин крови с полисахаридами. Влияние полисахаридов на фагоцитарную активность рассчитывали по изменению фагоцитарного числа. Статистическую обработку данных проводили в программе StatSoft Statistica 6.0 с использованием Mann-Whitney U Test.

G. lucidum и *L. edodes* – дереворазрушающие базидиомицеты, плодовые тела которых издавна используются в народной медицине стран Востока. *C. schevzenkovi* с недавних пор привлекает внимание ученых как перспективный продуцент биологически активных метаболитов. Ранее нами были показано, что полисахариды глубинного мицелия и культуральной жидкости вышеназванных грибов – пептидогликаны с содержанием белка 1,2–8,2%. Углеводная часть эндополисахаридов *G. lucidum* и *L. edodes* образована остатками D-глюкозы, D-маннозы и D-галактозы. Основная фракция эндополисахаридов *C. schevzenkovi* представлена гомоглюканом. Внеклеточные полисахариды *G. lucidum* и *L. edodes* – гетерогликианы (остатки D-глюкозы, D-маннозы и D-галактозы в разных соотношениях), *C. schevzenkovi* – гомо- и гетерогликианы с преимущественным содержанием остатков D-галактозы. Экзо- и эндополисахариды грибов – разветвленные гликаны, содержащие α и β гликозидные связи. Основная цепь представлена глюканами с C1→C3, боковые – гликанами с C1→C4 и C1→C6 гликозидными связями. Данные указывают на то, что полисахариды глубинного мицелия исследованных грибов по соотношению мономеров, их конфигурации и молекулярной структуре аналогичны полисахаридам плодовых тел.

Нами было изучено влияние различных концентраций полисахаридов (1, 10, 100, 200 и 300 мкг/мл), полученных при глубинном культивировании исследованных грибов на фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека. Также исследовалось влияние предварительной совместной инкубации нейтрофилов с полисахаридами на фагоцитарную активность на примере внутриклеточных полисахаридов *G. lucidum*. Установлено, что эндополисахариды, полученные из глубинного мицелия *G. lucidum*, в концентрации 100 мкг/мл и выше стимулируют фагоцитарную активность нейтрофилов по отношению к *St. aureus*. Более низкие концентрации полисахаридов (1 и 10 мкг/мл) также влияют на интенсивность фагоцитоза, однако различия с контролем статистически не значимы. Повышение концентрации полисахаридов выше 100 мкг/мл (200 и 300 мкг/мл) незначительно изменяет показатель фагоцитарного числа. Примечательно, что полисахариды стимулируют фагоцитарную активность как в случае предварительной инкубации нейтрофилов с полисахаридами в течение 30 мин, так и без нее.

Аналогично эндополисахаридам, внеклеточные полисахариды, выделяемые грибом в культуральную среду, оказывают стимулирующий эффект на интенсивность фагоцитоза. Статистически значимое увеличение фагоцитарного числа по сравнению с контролем получено для обеих фракций экзополисахаридов (водо- и щелочерастворимой) при концентрациях 100, 200 и 300 мкг/мл.

Результаты эксперимента согласуются с данными ученых Национального университета Тайваня, которые в экспериментах *in vitro* показали, что полисахариды плодовых тел *G. lucidum* стимулируют фа-

гоцитарную активность нейтрофилов крови в концентрации свыше 100 мкг/мл.

Полисахариды глубинного мицелия и культуральной жидкости *L. edodes* также оказывают эффект на клетки иммунитета. Как и в случае полисахаридов *G. lucidum*, внутриклеточные и обе фракции внеклеточных полисахаридов (водо- и щелочерастворимая) *L. edodes* в концентрации выше 100 мкг/мл статистически значимо увеличивают фагоцитарную активность нейтрофилов крови человека по отношению к *St. aureus*.

Иммунотропный эффект полисахаридов базидиального гриба *C. schvezhenkovi* изучен впервые. Отмечено, что при внесении эндо- и экзополисахаридов в концентрациях 100, 200 и 300 мкг/мл наблюдается статистически значимое усиление фагоцитоза тест-культуры нейтрофилами крови.

Сравнительное изучение фагоцитоз-стимулирующей активности внеклеточных и внутриклеточных полисахаридов глубинной культуры местного штамма *G. lucidum* с полисахаридами, выделенными из шляпок плодовых тел коммерчески доступного *G. lucidum* показало следующие результаты: максимальная активность фагоцитоза отмечена при внесении внутриклеточных полисахаридов глубинного мицелия. Иммунотропное действие внеклеточных полисахаридов и полисахаридов плодовых тел по своим значениям было близко, тем не менее, в случае плодовых тел показатель фагоцитарного числа оказался выше.

Полученные данные свидетельствуют о том, что полисахариды глубинной культуры грибов *G. lucidum*, *L. edodes* и *C. schvezhenkovi* стимулируют фагоцитарную активность нейтрофилов.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ МЕЛАНИНОВ ИЗ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ

Сушинская Н.В.¹, Курченко В.П.¹, Горовой Л.Ф.², Сенюк О.Ф.³

1 – Белорусский Государственный Университет

Минск, Беларусь

2 – Институт клеточной биологии и генетической инженерии

Киев, Украина

3 – Институт проблем безопасности атомных электростанций

Чернобыль, Украина

В настоящее время проводятся широкие исследования по изучению таких фармакологически перспективных соединений из грибов как гликаны, хитин, липиды, каротиноиды, флавоноиды, меланины. Уже сейчас применение в пищевой и фармацевтической промышленности стран юго-восточной Азии находят пищевые добавки и лекарственные средства на основе трутовых грибов (*Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*, *Fomes fomentarius*, *lentinus edodes*, *Fomitopsis officinalis*). В тоже время большинство субстанций получаемых из базидиальных грибов малоизучены и требуют дополнительных исследований их физико-химических свойств и биологической активности.

Перспективность получения биотехнологических продуктов медицинского назначения из трутовых грибов связана не только с их уникальными биологически активными веществами, но и с доступностью, широким распространением в лесах средней полосы. Кроме того, что трутовые грибы являются возобновляемым природным сырьем, возможно также их выращивание в культуре. При комплексной переработке плодовых тел трутовых грибов возможно получение разнообразных биологически активных веществ различной химической природы: хитин-меланинового комплекса, меланина, гликанов, липидов. Одной из малоизученных и перспективных в использовании субстанций являются меланиновые пигменты. Известно, что меланины обладают уникальными физико-химическими характеристиками, которые обуславливают их фото- и радиопротекторные, антиоксидантные, сорбционные свойства. Очищенные меланины из трутовых грибов могут найти широкое применение как эффективные лекарственные средство с широким спектром действия.

Цель работы состояла в оптимизации условий получения природных меланинов из ряда трутовых грибов, сравнительном изучении их физико-химических свойств и определении путей их использования в медицине.

В качестве источников получения меланинов служили плодовые тела грибов вызывающих бурую гниль – *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst (трутовик окаймленный) и белую гниль – *Fomes fomentarius* (L.) J.J. Kickx (трутовик настоящий), *Phellinus robustus* (P. Karst.) Bokrdot &

Galzin (трутовик ложный дубовый), *Phellinus igniarius* (L.) Qul. (трутовик ложный), *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (трутовик плоский), а также стерильная форма гриба *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilt f. *sterilis* (Vanin) Nikol. (трутовик скошенный, чага).

Применение шадящих условий выделения меланинов (0,1н NaOH; $t < 50^{\circ}\text{C}$) позволило получить водорастворимые меланиновые пигменты, что имеет важное практическое значение для их использования в медицине. Применение «жестких» условий выделения меланинов с использованием длительного кипячения в концентрированных щелочных растворах приводит к потере их растворимости и изменению физико-химических свойств, но в тоже время обеспечивает более полную экстракцию пигментов.

Выделенные пигменты были исследованы по традиционной схеме идентификации меланинов, включающей изучение растворимости, качественные реакции, электронную, ИК и ЭПР спектроскопию. Взаимодействие изучаемых пигментов с H_2O_2 , KMnO_4 и FeCl_3 свидетельствовало о присутствии в их структуре хиноидных и фенольных компонентов характерных для меланинов. Электронные спектры щелочных растворов пигментов из трутовых грибов имели вид пологих кривых с постепенным уменьшением оптической плотности по мере возрастания длин волн от 200 до 600 нм и характеризовались высоким светопоглощением. Характерным признаком меланизированных структур является интенсивное парамагнитное поглощение в районе g-фактора свободного электрона. На спектрах ЭПР меланинов трутовых грибов были зафиксированы сигналы, имеющие с величину g-фактора 2,0040–2,0045. Спектры ЭПР имели вид одиночной, асимметричной кривой с шириной сигнала $\Delta\text{H} = 5,3\text{--}6,0$ Гс, форма спектров средняя между лоренцевой и гауссовой. Основные физико-химические свойства изучаемых меланинов представлены в таблице. Описанные свойства позволили отнести выделенные пигменты к меланинам, а также сделать некоторые выводы об их структурно-функциональных особенностях.

Таблица. Физико-химические характеристики меланинов из трутовых грибов

Источник меланина	$\epsilon 0,001\%, l=1\text{cm}$				Элементный состав, %			ПМЦ
	УФС 240 нм	УФ 285 нм	УФА 360 нм	ВС 465 нм	Н/С	О	Н	
<i>F. pinicola</i> (ель)	0,050	0,018	0,007	0,001	0,14	18,9	1,4	0,3
<i>F. pinicola</i> (береза)	0,081	0,044	0,021	0,008	0,14	18,1	1,5	3,6
<i>G. applanatum</i> (осина)	0,130	0,098	0,034	0,013	0,14	30,8	6,0	8,7

<i>Ph. igniarius</i> (маньчжурский орех)	0,135	0,105	0,054	0,017	0,13	36,3	4,9	15,7
<i>F. fomentarius</i> (береза)	0,157	0,118	0,058	0,023	0,13	34,9	5,7	5,9
<i>Ph. igniarius</i> (осина)	0,196	0,154	0,096	0,028	0,12	38,3	2,0	3,3
<i>Ph. robustus</i> (дуб)	0,213	0,169	0,093	0,026	0,12	38,7	3,2	5,2
<i>I. obliquus</i> (береза)	0,300	0,197	0,093	0,028	0,10	38,7	0,6	3,5

Сравнительные исследования физико-химических свойств меланинов, выделенных из некоторых трутовых грибов, выявили ряд сходств и различий в их свойствах, которые определяют их биологическую активность. Содержание азота в пигментах из плодовых тел исследуемых грибов колеблется от 1,4 до 6,0% и может быть связано как с присутствием в их структуре азотсодержащих гетероциклов так и аминокислот, пептидов. Меланин из *I. obliquus* содержит всего 0,6% азота, что сравнимо с содержанием азота в растительных пигментах – алломеланинах (0,3–0,7%). Соотношение углерода и водорода, косвенно свидетельствует о присутствии ненасыщенных связей в мономерах изучаемых меланинов. Уменьшение коэффициента Н/С сопровождалось одновременным увеличением содержания кислорода в структуре меланиновых молекул. При сопоставлении элементного состава с оптической плотностью образцов показано, что соотношение углерода и водорода уменьшается соответственно увеличению светопоглощения в УФ и ВС.

Таким образом, отмеченная интенсивность светопоглощения в УФ и видимой части спектра, обусловлена развитой системой сопряженных двойных связей и присутствием кислородсодержащих хромофоров. Наибольшая способность к светопоглощению в УФ и видимой области света была отмечена для меланинов из *I. obliquus*, *Ph. robustus* (дуб) и *Ph. igniarius* (осина), что позволяет их использовать в качестве субстанций лечебно-профилактических средств, обладающих фотопротекторным действием.

Благодаря своим окислительно-восстановительным свойствам, а также наличию большого количества ПМЦ меланины проявляют антиоксидантные свойства. Эти свойства полученных меланинов были изучены на модели метаболической активации аминобифенилов по пути пероксидазного окисления. В качестве окисляемых субстратов были использованы канцерогены с убывающей активностью: бензидин (БД) – диметилбензидин – диметоксибензидин – тетраметилбензидин (не канцероген). Ингибирование процесса пероксидазного окисле-

ния ряда аминобифенилов в присутствии меланина изучали на примере меланина из *I. obliquus*. Согласно полученным данным меланин из *I. obliquus* наиболее эффективно ингибирует окисление БД (50% ингибирования наблюдается при концентрации меланина 3,9 мкг/мл), 50 % ингибирование ДМБД и ДМОБД наблюдаются в несколько больших концентрациях меланина (7,5 мкг/мл и 9,1 мкг/мл соответственно). Окисление ТМБД не ингибируется на 50% даже при повышении концентрации меланина до 25 мкг/мл. В процессе пероксидазного окисления аминобифенилов возможно образование бифункциональных электрофильных продуктов, взаимодействующих с ДНК и вызывающих ее перекрестные сшивки. Такие повреждения приводят к мутациям и последующей трансформации клеток. Добавление меланинов в реакционную среду снижает образование перекрестношитой ДНК до полного восстановления электрофоретической подвижности ДНК фага λ . Сравнительное изучение защитной способности меланинов, выделенных из разных трутовых грибов, показало, что по эффективности ингибирования повреждений ДНК при пероксидажном окислении меланины располагаются в ряду с возрастающей эффективностью: *Ph. igniarius* (маньчжур. орех) – 9,0 мкг/мл, *F. fomentarius* (береза) – 6,3 мкг/мл, *Ph. robustus* (дуб) – 3,5 мкг/мл, *Ph. igniarius* (осина) – 3,3 мкг/мл, *G. applanatum* (осина) – 3,2 мкг/мл, *I. obliquus* (береза) – 3,0 мкг/мл. Отличия в эффективных концентрациях может быть связано со структурными особенностями изученных пигментов.

Таким образом, меланин является эффективным ингибитором реакций окисления аминобифенилов, выполняя роль полимерной матрицы для ковалентной модификации пероксидажными оксидантами БД. Механизм его генопротекторного действия, вероятно, связан с тем, что продукты окисления БД более эффективно взаимодействуют с электрофильными центрами меланина, чем с ДНК.

Изучение способности меланинов влиять на уровень индуцированных гамма-излучениями одноклеточных разрывов ДНК в лимфоцитах периферической венозной крови человека проводили при остром облучении крови γ -и жесткими β -полями образцов модифицированного аварией 1986 г. ядерного топлива 4-го энергоблока ЧАЭС на протяжении 15 минут, достигая общей экспозиционной дозы облучения ~ 5 Р. Внесение в среду культивирования лимфоцитов меланинов изменяет исходную флюоресценцию ДНК как интактных, так и облученных лимфоцитов за счет разных количеств интеркалированного пикогрина. Наличие в культуральной среде меланинов способствует существенному снижению деструктивных изменений ДНК как в норме, так и при воздействии ионизирующего излучения.

Таким образом, грибные меланины являются мощными природными антиоксидантами, способными нейтрализовать различные свободные радикалы. Они способны значительно снизить уровень одинарных разрывов и других повреждений ДНК, возникающих под действием хи-

мических мутагенов и радиационного фактора и могут быть рекомендованы в качестве эффективных низкотоксичных генопротекторных средств. Кроме того, показано что исследованные меланины связывают радиоактивные изотопы урана, плутония, америция, кюрия, цезия, стронция и др., а также тяжелые металлы: свинец, кадмий, кобальт и др.. Эти исследования показали перспективность использования меланинов в качестве энтеросорбентов.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАТРИЕВОЙ СОЛИ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПОЛУЧАЕМОЙ ИЗ ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

*Ханис А.Ю., Воронин С.П., Гуменюк А.П., Федоров Ю.Н.
ЗАО «Ветзероцентр»
Москва*

В настоящее время в медицине и ветеринарии широко применяются иммуномодулирующие препараты, изготавливаемые из различных микроорганизмов. Практическое значение и высокую биологическую активность имеют природные иммунокорректирующие препараты, получаемые из различных видов бактерий, такие как продигиозан — высокополимерный полисахаридный комплекс, выделенный из *Bac. prodigiosum*, пирогенал — липополисахарид, образующийся в процессе жизнедеятельности *Pseudomonas aeruginosa*, рибомунил — рибосомные фракции *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* и др., грибов — зимозан — биополимер, получаемый из оболочек дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, иммуноферон — содержит полисахарид глюкоман, из стенок *Candida utilis*. Широко применяется в нашей стране природный иммуномодулятор натрия нуклеинат (натриевая соль рибонуклеиновой кислоты), который производится методом гидролиза биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с дальнейшей ее очисткой. Активным биологическим компонентом этого препарата являются нуклеотиды. На базе натриевой соли рибонуклеиновой кислоты разработано новое поколение природных иммунокорректирующих препаратов: риботан, нуклевит и др., показана их высокая эффективность при иммунодефицитах различного генеза.

Натриевая соль рибонуклеиновой кислоты (натрия нуклеинат) — обладает широким спектром биологической активности, ускоряет процессы регенерации, стимулирует факторы естественной резистентности, миграцию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарную активность нейтрофилов. Натрия нуклеинат стимулирует факторы как врожденного, так и приобретенного иммунитета, активируя пролифе-

рацию Т- и В-лимфоцитов. Главным фармакологическим свойством нуклеиновых кислот является стимуляция лейкопоэза, процессов регенерации и репарации, функциональной активности практически всех клеток иммунной системы. Препараты группы нуклеиновых кислот стимулируют функциональную активность нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, повышая их способность поглощать и убивать поглощенные бактерии, усиливают антиинфекционную устойчивость к заражению патогенными микроорганизмами, вероятно, за счет стимуляции фагоцитоза, повышают функциональную активность Т-лимфоцитов, пролиферацию В-клеток и синтез антител. Препараты этой группы обладают антиоксидантными свойствами, что проявляется в их способности удалять из организма свободные радикалы.

Главной мишенью применения иммуномодулирующих препаратов на основе рибонуклеиновых кислот являются вторичные иммунодефициты различного генеза, которые характеризуются частыми, рецидивирующими, трудно излечимыми инфекционно-воспалительными процессами. Их применение обосновано, если даже иммунодиагностические исследования не выявят отклонений в иммунном статусе, поскольку в основе любого хронического инфекционно-воспалительного процесса лежат изменения в функциональном состоянии иммунной системы. Клиническая практика показывает, что в тех случаях, когда показано применение антибиотиков, противогрибковых, противовирусных средств или других химиотерапевтических препаратов, необходимо назначать и иммуномодуляторы. При этом, иммуномодуляторы могут применяться как при комплексной терапии, так и в виде монотерапии, особенно в зонах экологического неблагополучия. Необходимость применения иммунокорректирующих препаратов в ветеринарной практике обоснована утяжелением экологического неблагополучия и возрастающей нагрузкой на организм неблагоприятных антропогенных факторов, ростом иммунозависимых патологий, аллергий, а также возрастающей неэффективностью традиционных методов терапии заболеваний, ростом устойчивости патогенов к традиционным лекарственным средствам.

НЕМАТИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ФРАКЦИЙ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

*Шемшуря О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н.
Институт микробиологии и вирусологии МОН РК
Алма-Ата, Республика Казахстан*

Одним из факторов, определяющих взаимоотношения микроорганизмов является антагонистическая активность, связанная с синтезом токсичных веществ, таких как антибиотики, ферменты, алкалоиды или

пептиды. В литературе имеются сведения об антибактериальных пептидах растений, синтезированных из D-аминокислот. Действие пептидов на бактерии происходит за счет образования спирали, у которой на одной стороне находятся положительно заряженные аминокислоты (аргинин или лизин), а на другой стороне – гидрофобные аминокислоты (лейцин, фенилаланин и др.). Все это свидетельствует о важной роли аминокислот в процессе антагонизма. Целью данной работы явилось установление аминокислотного состава в экстрактах мицелиальных грибов, принадлежащих к различным родам и изучение нематицидной активности аминокислотных фракций, выделенных из грибных экстрактов.

Аминокислотный анализ экстрактов культуральной жидкости и мицелия грибов проводили методом восходящей одномерной хроматографии в присутствии метчиков (достоверно точных веществ) на бумаге (FW3).

Для исследования биологической активности использовали стандартные вещества и грибные фракции, содержащие аминокислоты. В качестве тест-объектов использовали свободно живущие нематоды, выделенных из прикорневой зоны огурцов. Тестирование проводили в лабораторных условиях.

Хроматографический анализ на выявление аминокислотного состава культуральной жидкости и мицелия 10 штаммов грибов, относящихся к роду *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* показал, что в экстрактах грибов наиболее часто встречаются: DL- аспарагиновая кислота, L-лейцин, L-цистеин, L-глутаминовая кислота; реже – L-валин, L- гистидин, L-пролин, L-глутамин, DL-фенил-аланин.

Исследование нематицидной активности стандартов аминокислот установило, что наибольший процент гибели нематод происходит в вариантах с использованием аргинина, цистеина и глутаминовой кислоты (80-90% гибели нематод в течение 72 часов). В вариантах с использованием глутаминовой кислоты и цистеина у некоторых погибших особей нематод, наблюдались разрывы внутреннего содержимого. Нарушение функциональной деятельности пищеводных желез в области кардиального бульбуса пищевода, а также разрывы и деформации средней кишки и половой системы (яичника) произошли в результате действия аналога цистеина (фракция №3М) у нематоды *Chiloplacus symmetricus*. Сравнительное исследование нематицидной активности грибных фракций, содержащих аминокислоты, и стандартных соединений показало, что в большинстве случаев, активность природных соединений была выше химических стандартов. Биологическое действие грибных фракций возможно усиливается присутствием в них дополнительных веществ, которые вместе с выявленными аминокислотами представляют собой биологически активный комплекс.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о токсическом характере действия некоторых аминокислот, синтезируемых микроскопическими грибами, которые наряду с другими биологически активными веществами, могут обуславливать высокую эффективность штаммов продуцентов, перспективных для защиты растений от нематод.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДОВ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Шишкина Л.Н.¹, Капич А.Н.²

1 – Институт биохимической физики имени Н.М. Эммануэля РАН,
Москва, Россия

2 – Международный государственный экологический университет
имени А.Д. Сахарова
Минск

В настоящее время роль процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в регуляции клеточного метаболизма в норме и при развитии многих патологий не вызывает сомнения. Именно активное изучение роли мембран в регуляции биохимических процессов в клетках привело к пониманию функционального значения окислительных процессов в липидах в формировании последствий воздействия как различных биологических активных веществ (БАВ), так и повреждающих факторов на организм. Поэтому область «свободнорадикальные исследования» за последние 10–15 лет стала одним из главных направлений современной биомедицинской науки.

Разработка стратегии и тактики профилактики и терапии различных заболеваний связана с поиском эффективных регуляторов ПОЛ (ингибиторов – антиоксидантов, инициаторов, синергистов) и изучением детальных механизмов их воздействия на организм. Суммарная антиоксидантная активность (АОА) сложных систем зависит как от концентрации и физико-химических характеристик антиоксидантов (АО), так и от степени ненасыщенности субстрата окисления, наличия в системе веществ, влияющих на ингибирующую эффективность АО, соотношения компонентов в системе, скорости зарождения радикалов в окислительных процессах. Кроме того, необходимо учитывать высокую лабильность липидного компонента природных объектов и участие самих липидов в реакциях автоокисления на стадиях зарождения радикалов и продолжения цепи, масштаб которого обусловлен как кинетическими характеристиками липидов, так и зависит от интенсивности процессов окисления.

Ранее нами были обнаружены радиозащитные свойства, антивирусная и АО активность экстрактов мицелия некоторых ксилотрофных базидиомицетов, в том числе серно-желтого трутовика (*Laetiporus sulphureus*). В данной работе проведен сравнительный анализ АО свойств и состава липидов мицелия *L. sulphureus* в зависимости от условий культивирования гриба, степени ненасыщенности модельного субстрата окисления, условий экстракции БАВ, скорости зарождения радикалов в системе. Одновременно исследовали липофильные вещества стерильных наростов скошенного трутовика (*Inonotus obliquus*), известных под названием чага. Актуальность этих исследований обусловле-

на необходимостью выявления условий, способствующих проявлению максимальной биологической активности экстрактов ксилотрофных базидиомицетов. Проведена оценка вклада АО свойств и состава липидов мицелия *Laetiporus sulphureus* и чаги в обеспечение биологической активности экстрактов.

ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ МЕСТНОГО ШТАММА *INONOTUS OBLIQUUS*

Щерба В.В.¹, Бабицкая В.Г.¹, Иконникова Н.В.¹, Бисько Н.А.²

1 – Институт микробиологии НАН Беларуси

Минск, Беларусь

2 – Институт ботаники НАН Украины

Киев, Украина

В последние годы резко возрос интерес исследователей, а также крупных фармацевтических компаний к высокомолекулярным пигментам фенольной природы меланинам. Это связано с тем, что природные меланины обладают широким спектром фармакологического действия антиоксидантным, генопротекторным, радиопротекторным, иммуномодулирующим, гепатопротекторным. Меланиновые пигменты могут быть также использованы и в качестве косметологических средств, обладающих фотопротекторной активностью, сорбентов радионуклидов и ионов тяжелых металлов. Ранее нами было исследовано образование и характеристика меланиновых пигментов синтезируемых коллекционными культурами родов *Inonotus* и *Phellinus*.

В данной работе представляло интерес исследовать факторы регуляции синтеза меланиновых пигментов у вновь выделенных из природных источников штаммов *Inonotus*.

Отбор плодовых тел представителей *Inonotus* проводили в 11 районах Минской, Могилевской, Гродненской и Витебской областей. Критерием оценки меланинсинтезирующих грибов был выбран коэффициент цветности (D465/D650) меланиновых экстрактов. Скрининг, проведенный среди 23 коллекционных культур грибов, относящихся к 10 родам, показал, что лучшими продуцентами меланина оказались штаммы *Inonotus obliquus*, что явилось основанием для поиска местных штаммов среди представителей данного рода. Отобранные 11 изолятов грибов р. *Inonotus* при высеве на сусло-агар давали радиальные темноокрашенные колонии. Гифальная система грибов мономитическая. Гифы септированные, тонкостенные, гиалиновые до желтоватых, ветвящиеся, переходящие в толстостенные, ржаво-бурые, параллельно расположенные. Полное зарастание газона чашки происходило на 9–10 сут. По коэффициенту цветности меланиновых экстрактов лучшими продуцен-

тами оказались изоляты грибов №№ 2; 3; 7; 8; 11. При глубинном культивировании отобранных изолятов грибов на глюкозо-пептонной среде выход меланина составлял от 0,35 до 0,55 г/л к 10 сут. роста. Наиболее активным продуцентом меланина оказался изолят гриба №11, который и был отобран для дальнейших исследований. По выходу меланина он превосходил коллекционный штамм *Inonotus obliquus* в 2 раза.

На основании изучения культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков отобранный штамм был идентифицирован как *Inonotus obliquus* № 11.

Известно, что синтез вторичных метаболитов, в том числе и меланиновых пигментов детерминирован не только генетически, но и в определенной мере зависит от внешних факторов, таких как источники углерода, азота и их соотношения, минеральных компонентов питательной среды, а также температуры, рН среды и интенсивности аэрации.

В качестве источников углерода для *I. obliquus* № 11 служили арабиноза, ксилоза, галактоза, глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, лактоза, целлобиоза, манит, сорбит, крахмал, ржаная мука, На-янтарнокислый, шавелевокислый, малоновокислый. Максимальный выход меланина (0,87г/л) наблюдался на среде, содержащей целлобиозу. *I. obliquus* № 11 также активно использовал глюкозу, арабинозу, ксилозу, манит и сорбит, где выход меланина составил 0,60 – 0,65 г/л. То, что на среде с целлобиозой гриб синтезировал наибольшее количество пигмента видимо связано с его питанием в природных условиях, где целлюлоза под действием гидролитических ферментов расщепляется до целлобиозы и используется как источник углерода. В связи с тем, что количественный выход меланина на указанных углеводах характеризовался величинами одного порядка, в дальнейших исследованиях мы остановились на использовании глюкозы в качестве источника углерода. Исследование источников азотного питания показало, что минеральный азот не оказывал существенного влияния на синтез меланина *I. obliquus* № 11, а среди органического азота лучшим оказался пептон.

Из литературы известно, что внесение в среду культивирования ионов меди в определенной концентрации стимулирует рост грибов и синтез вторичных метаболитов. Проведенные исследования показали, что оптимальное содержание ионов меди для синтеза меланина составило 0,008%. Исследование влияния на меланиногенез ароматических соединений показало, что моноциклические добавки пирокатехин, тирозин, бензойная и пара-оксибензойная кислоты стимулируют синтез меланина, тогда как фенол и бициклическая добавка 2-нафтол, напротив, ингибируют его.

Среди физических факторов регуляции биосинтетической активности высших базидиомицетов, в том числе и лекарственных, одним из важнейших является кислотность питательной среды. Этот фактор влияет на растворимость солей, ионное состояние источника углерода,

морфологию клеток и их структуру, транспорт питательных веществ, мембранные реакции, а, следовательно, и на скорость роста культуры. Подавляющее большинство грибов класса Basidiomycetes растет в широком диапазоне кислотности среды, хотя для многих из них оптимальные значения этого показателя находятся в пределах 5,0–6,0. Наряду с pH питательной среды, не менее важными факторами регуляции метаболизма являются температура и аэрация.

Продуцент меланиновых пигментов *Inonotus obliquus* № 11 рос и синтезировал меланин в интервале исходного pH от 4,0 до 9,0. При этом оптимум pH составил 7,0–8,0 как для накопления биомассы, так и для синтеза меланина. Интервал температур, в которых рос *I. obliquus* № 11, находился в пределах 18–30° С, однако активный синтез меланиновых пигментов происходил при температуре 20–25° С.

Исследование влияния аэрации на образование меланина позволило установить следующую закономерность: при увеличении насыщенности питательной среды кислородом с 0,155 до 0,550 г O₂ /л/ч, выход биомассы составлял 7,55–14,8 г/л, тогда как максимальная биосинтетическая активность *I. obliquus* № 11 по меланину наблюдалась при 0,210–0,325 г O₂ /л/ч и составила 2,4 г/л.

Глава 9

КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ГРИБЫ И ИХ МЕДИЦИНСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В БЕЛАРУСИ ШТАММОВ *GANODERMA LUCIDUM*

Бабицкая В.Г.¹, Щерба В.В.¹, Пучкова Т.А.¹, Бисько Н.А.², Смирнов Д.А.¹

1 – Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

2 – Институт ботаники НАН Украины, Киев

Высшие базидиальные грибы являются не только вкусным и полезным продуктом питания. В них содержатся различные антибиотики, гормональные и ростовые вещества, а также ряд важных для жизнедеятельности организма человека соединений. Поэтому в последние годы внимание ученых всего мира направлено на изучение возможности использования грибов в качестве источника биологически активных и лечебных веществ.

Особое место в царстве грибов занимают грибы с выдающимися целебными свойствами. Пальму первенства разделяют дальневосточные – шиши-таке, майтаке и рейши.

Рейши – трутовик лакированный (*Ganoderma lucidum*) растет преимущественно в теплых регионах. Встречается он и в Беларуси. Представляло интерес выделить и отобрать активные продуценты полисахаридов среди местных грибов р. *Ganoderma*, провести сравнительное изучение их физиолого-биохимических особенностей. В качестве контроля использовался штамм 362 (КНДР).

Плодовые тела гриба собраны в 11 районах Минской, Могилевской и Витебской областей Беларуси. Выделенные из плодовых тел изоляты на агаризованном сусле давали радиальные колонии с плотным сильно переплетенным вначале белым, а затем желтовато-золотистым со светло-коричневыми включениями мицелием. Края колоний приподнятые, с высоким густым мицелием. На реверзуме наблюдается зональность с темными (черно-коричневыми) и светлыми зонами. Полное зарастание чашек Петри наблюдается к 7 сут. Генеративные гифы септированные, разветвленные, тонкостенные или с утолщенными клеточными стенками, бесцветные, изредка буроватые. При дифференциации гиф образуются различные, характерные для высших базидиомицетов структуры (пряжки).

При глубинном культивировании на пивном сусле и глюкозо-пептонной среде выход биомассы отобранных штаммов достигал 9,5–11,7 г/л, эндополисахариды составляли 7,5 и 8,0%, экзополисахариды – 6,5–7,0 г/л. Оказалось, что белорусские штаммы синтезируют значительно больше экзополисахаридов. Содержание белка в их биомассе составило 21,0–23,0%, липидов – 7,3–9,5%, фенольные соединения достигали 870 мг%. Аналогичные показатели в биомассе штамма 362: 22,5%, 9,0%, 730 мг%. По аминокислотному составу местные изоляты практически не отличались от известной культуры. Не отмечено су-

шественных различий и в жирно-кислотном составе липидов. Сумма ненасыщенных жирных кислот в отобранных двух штаммах составила 73,8–76,2% (в штамме 362 – 76,0%), содержание кислоты C18:2 – 65,6 и 67,3% против 65,0% в контрольном варианте. Степень ненасыщенности липидов – 2,8–3,2 (контроль – 3,2). Экстракты обоих штаммов обладают высокой антиоксидантной активностью.

Для сравнения отобранных штаммов изучалась их лигнолитическая активность. Исследования выявили наибольшую ферментативную активность у местных штаммов. Динамика биосинтеза ими лигнина носила ярко выраженный двухфазный характер с максимумами на 5–6 и 12 сут. Несколько иная картина наблюдалась у *G. lucidum* 362: лигнолитическая активность достигала максимума на 4 сут., затем резко снижалась.

Из 13 источников углерода (моно-, ди- и полисахариды) лучшими для роста и образования полисахаридов белорусскими штаммами оказалась глюкоза (7,3–8,0%), хотя грибы активно росли и синтезировали до 6,8–7,2% полисахаридов на мальтозе. Оптимальная концентрация глюкозы – 3%. Из исследованных источников азота лучшими для образования полисахаридов оказались пептон и сульфат аммония, наибольший выход эндополисахаридов отмечен при соотношении C:N, близком к 20, экзополисахаридов – к 25 (для контрольного штамма эти показатели – 17 и 25).

Оптимальной для роста и образования эндополисахаридов двумя отобранными штаммами *G. lucidum* оказалась температура 23–25°C, синтез экзополисахаридов происходил в более широком диапазоне температур (20–27°C). При культивировании грибов в условиях глубокой ферментации рост, морфология клеток, поступление питательных веществ и биосинтез метаболитов зависели от насыщенности питательной среды кислородом. Максимальный выход биомассы обоих штаммов наблюдался при высокой аэрации (0,3–0,6 г O₂ /л·ч), синтез же эндо- и экзополисахаридов – при более низкой (0,2–0,3 и 0,16–0,20 г O₂ /л·ч, соответственно).

Грибы росли в широком диапазоне начальных значений рН среды, от 3,0 до 7,5. Наибольший выход биомассы наблюдался при исходном рН 6,0–7,0. Снижение рН от 6,0 до 3,0 приводило к более активному образованию как эндо-, так и экзополисахаридов.

Оптимизация питательных сред и условий культивирования позволили повысить синтез отобранными грибами экзополисахаридов на 36,7–57,4%, эндополисахаридов – на 31,0–39,7%. Сравнительный анализ полученных результатов с контрольным штаммом и результатами других исследователей показал, что белорусские культуры по важнейшим показателям сопоставимы с зарубежными аналогами или даже превосходят их.

Таблица. Продуктивность процесса роста грибов р. *Ganoderma*

Параметры	<i>G. lucidum</i> 8	<i>G. lucidum</i> 10	<i>G. lucidum</i> 362	<i>G. lucidum</i> *
Средняя скорость роста, г/л сут	1,8	1,9	1,7	1,6
Выход биомассы, г/г источника углерода	0,66	0,68	0,51	0,39
Выход экзополисахаридов, г/л	8,5	9,3	6,2	0,53
П биосинтеза экзополисахаридов, мг/л сут	1214,0	1328,0	885,7	48,0
Выход эндополисахаридов, г/л	1,28	1,30	1,35	1,43
П биосинтеза эндополисахаридов, мг/л сут	182,9	185,7	185,7	142,0
Выход эндополисахаридов, мг/100 мг сухой биомассы	10,2	10,0	12,5	12,3

* TANG Y.J., ZHONG J.J. // ENZYME AND MICROBIAL TECHNOLOGY. – 2002. – VOL. 31. – P. 20-28.

Выделенные новые штаммы обладают гепатопротекторной и иммунотропной активностями. Иммуностимулирующий эффект их несколько выше контрольного штамма: фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов – 48,7%, активность классического пути системы комплемента сыворотки крови – 45,2 усл. ед., аналогичные показатели у штамма 362 – 39,3% и 42,8 усл. ед.

СКОРОСТЬ РОСТА МИЦЕЛИЯ РОДА CORIOLUS QUEL

Бисько Н.А.¹, Соломко Э.Ф.¹, Антоненко Л.А.², Полищук Т.В.²

1 – Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины

2 – Национальный технический университет Украины

«Киевский политехнический институт»

Киев

Высшие базидиальные грибы рода *Coriolus* обладают широким диапазоном лекарственных свойств, среди которых: противовирусные, антибактериальные, гепатопротекторные, иммуномодулирующие, противоопухолевые и др. Исследование биологических свойств штаммов

Coriolus spp. является необходимым условием для их использования в современной биотехнологии.

Целью нашей работы было исследование влияния состава питательной среды и температуры инкубации на скорость роста 4 видов (10 штаммов) лекарственных грибов рода *Coriolus* из Коллекции культур шапочных грибов отдела микологии Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (Бухало, Митропольская, 2001).

Изучение динамики роста мицелия культур на агаризованных средах, анализ и расчет скорости роста мицелия в стадии линейной зависимости увеличения радиуса колонии от времени культивирования, за описанным методом (Соломко и др., 2000), позволили охарактеризовать скорость радиального роста исследованных культур (VR, мм/сутки), которая зависела от состава среды и температуры культивирования.

Скорость роста большинства штаммов (60%) зависела от состава питательной среды. Так, сусло-агар обеспечивал максимальную скорость роста штаммов вида *C. zonatus*, а картофельно-глюкозный агар – максимальную скорость роста штаммов вида *C. versicolor*. У 40% культур скорость роста была одинаковой на обеих средах. К примеру, мицелий *C. versicolor* 5131 рос с одинаковой скоростью на картофельно-глюкозном агаре и сусло-агаре (VR 11,5 мм/сутки). Следует отметить разное отношение штаммов вида *C. hirsutus* к составу питательной среды: так, штамм *C. hirsutus* 359 быстрее рос на картофельно-глюкозном агаре, тогда как для штаммов 358 и 5137 максимальная скорость роста мицелия наблюдалась на сусло-агаре.

Все исследованные культуры рода *Coriolus* сохраняли жизнеспособность при критически низкой температуре +4°C. При критически высокой температуре +37°C активный рост отмечен только у штаммов вида *C. hirsutus* (VR 4,8–5,5 мм/сутки). Остальные исследованные культуры не росли при 37°C, но и не теряли свою жизнеспособность, на что указывало возобновление роста при последующей инкубации при 26°C.

Температура 18°C не обеспечивала максимальной скорости роста мицелия исследованных видов. Наиболее благоприятными для роста были температуры, которые лежат в диапазоне от 26 до 30°C. У 60% исследованных культур наблюдается четкий оптимум температур: у штаммов вида *C. zonatus* (VR > 14,0 мм/сутки) и *C. versicolor* 353 (VR 20,8 мм/сутки) он определен при 30°C, а у остальных штаммов вида *C. versicolor* (VR > 11,6 мм/сутки) – при 26°C. Таким образом, при температуре 30°C наиболее быстрорастущими были штаммы видов *C. versicolor* 353 и *C. zonatus* 5301 (VR 20,8 и 17,0 мм/сутки, соответственно). При температуре 26°C лучшими были штаммы *C. versicolor* 353 и 5129 (VR 15,5 и 15,8 мм/сутки, соответственно). Скорость роста штаммов видов *C. hirsutus* та *C. pubescens* не зависела от температуры в достаточно широком диапазоне (26–30°C). При температуре 34°C скорость роста вегетативного мицелия исследованных культур рода *Coriolus* превы-

шала скорость роста, наблюдаемую при 18°C, а для штаммов быстрорастущих видов *C. versicolor* и *C. zonatus* этот показатель превышал 8,0 мм/сутки.

Полученная информация пополняет банк данных по скорости роста вегетативного мицелия базидиальных грибов рода *Cordiolus*, характеризует штаммовое разнообразие культур отдельных видов и позволяет отобрать наиболее перспективные для последующего исследования. Основываясь на общепринятых критериях, которые используются при рассмотрении жизненных стратегий мицелиальных грибов (Великанов, Сидорова, 1983), к быстрорастущим г-стратегам, радиальная скорость которых равняется или превышает 12 мм/сутки (или 0,5 мм/час), из исследованных нами видов базидиальных грибов можно отнести *C. versicolor* и *C. zonatus*. Виды *C. hirsutus* и *C. pubescens*, радиальная скорость роста которых находится в диапазоне от 1,2 до 12 мм/сутки (или от 0,05 до 0,5 мм/час), по этим критериям относятся к группе р-стратегов.

ГРИБЫ РОДА *CORDYCEPS* КАК ОБЪЕКТЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ, ИХ РЕСУРСЫ В РОССИИ И ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ *EX SITU*

*Борисов Б.А.¹, Лиховидов В.Е.², Володина Л.И.², Жирков В.М.²,
Леднев Г.Р.³, Глунов В.В.⁴*

*1 – НП ЗАО «Росагросервис»
Москва*

*2 – Федеральное государственное учреждение науки
«Государственный научный центр микробиологии и биотехнологии»
(ФГУН «ГНЦ ПМБ»)*

*п. Оболенск Московской области
3 – ВНИИ защиты растений РАСХН
С.-Петербург – Пушкин*

*4 – Институт систематики и экологии животных Сибирского отд. РАН
Новосибирск*

Известные долго узкому кругу микологов-систематиков, грибы рода *Cordyceps* (*Ascomycota*, *Hypocreales*, *Clavicipitaceae*) теперь во многих странах оказались в центре внимания биотехнологов. Это связано не столько с тем, что, являясь летальными патогенами насекомых, клещей и нематод, они могут служить в качестве продуцентов биопрепаратов для контроля численности фитофагов, сколько с обнаружением у них множества ценных для фармакологии биологически активных веществ (например, циклоспоринов). Некоторые виды этих грибов веками и

поныне широко используются против многих болезней в традиционной китайской медицине (Ибрагимов, Ибрагимова, 1960; Halpern, 1999; Wang, Shiao, 2000).

К настоящему времени в мире описано около 400 видов *Cordyceps*. Наибольшее видовое разнообразие и обилие этих грибов отмечено в дождевых тропических лесах. В оптимальных экологических условиях низких широт и/или в горных районах многие виды *Cordyceps* образуют половую стадию (телеоморфу), а в равнинных местностях умеренного пояса могут широко встречаться только в бесполой (анаморфной) стадии развития, относимой к формальному отделу *Deuteromycota*. Есть немало видов, которые, видимо, вообще утратили телеоморфы. К сожалению, в тропиках и субтропиках многие места, характеризующиеся высоким видовым разнообразием этих грибов, исчезают в результате интенсивного освоения (Шри-Ланка, Китай, Япония, амазонские леса и мн. др.).

В этой связи ценными выглядят давние сведения (почти неизвестные зарубежным специалистам) о том, что уникальные „месторождения“ грибов р. *Cordyceps* есть и в России. Установлено, что в муссонных реликтовых лесах на юге Приморского края обитает около 80 видов этих грибов (с учетом анаморфных), среди которых немало экзотических, известных из Шри-Ланки (например, *C. blattae*, *C. pruinosa*), Японии (*C. takaomontana*, *C. tricentrus*, *C. hokkaidoensis*, *C. arachneicola*, *C. neovolkiana* и др.), Африки (*C. gemella*, *C. miniata*, *C. variegata*), Австралии (*C. larvarum*), Индонезии (*C. flavobrunescens*), Америки (*C. corallomyces*, *C. paludosa* и др.) (Васильева, Коваль, 1961; Коваль, 1962, 1974, 1984, 1991); 10 видов были описаны здесь как новые для науки (Коваль, 1961, 1964, 1967, 1974; Коваль, Назарова, 1969). Поскольку многие из них были найдены лишь в этом регионе России (порой, в очень локальных точках), целесообразно внести эндемичные и наиболее редкие виды в отечественную Красную Книгу. Также необходимо проведение здесь инвентаризации видов *Cordyceps*, особенно, на уникальных с биогеографической точки зрения территориях – в заповедниках и в местах, которым грозит опасность освоения или негативного воздействия извне.

Благодаря поддержке грантом ISTC 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты» такая работа была начата авторами в 2001 г.

Очевидными успехами трех проведенных экспедиций в Приморский край в 2001-2003 гг. можно считать следующее:

- за довольно ограниченное время полевых работ в нескольких местах Южного Приморья в общей сложности было найдено свыше 40 видов клавиципитациевых грибов на насекомых и пауках;

- в неисследованном прежде Лазовском заповеднике (долина р. Перекатной, урочище Сухой Лог, окрестности мыса Туманного) отмечено по меньшей мере 32 вида грибов этой группы (Борисов и др., 2005);

– в заповедниках «Кедровая Падь», Лазовском, Уссурийском и в окрестностях Владивостока зарегистрировано 8 видов (*C. purpleostromata*, *C. coccidiicola*, *C. shimizui*, *C. elongatostromata*, *C. roseus*, *C. rubrostromata*, *C. rubiginosoperitheciata*, *C. oxycephala*), являющихся новыми для России в целом; 2 вида (*C. ophioglossoides*, *C. clavulata*), известные из Евр. ч. России, впервые найдены и в Приморском крае;

– подтверждена встречаемость в настоящее время в «Кедровой Пади» многих видов (*C. nutans*, *C. stylophora*, *C. variegata*, *C. pruinosa*, *C. larvarum*, *C. elongata*, *C. militaris*, *C. corallomyces* и др.), 50 лет назад обнаруженных там Э. З. Коваль.

Однако подобные полевые исследования должны быть гораздо более длительными и охватывать большие территории, ибо: многие виды *Cordyceps* встречаются в разное время с июня по октябрь; распространение их характеризуется микроочаговостью. Поскольку ядро этих очагов многие годы сохраняется примерно в одних и тех же местах, очень важно, чтобы информация о местах находок видов была предельно точной.

К сожалению, многие виды *Cordyceps* выделить в культуру не удалось. Анализ баз данных авторитетных зарубежных микологических коллекций (IMI, CBS, ATCC, ARSEF и др.) и обширной мировой литературы также показывает, что в культуре поддерживаются, главным образом, штаммы, выделенные из анаморфных образцов, тогда как из телеоморф *ex situ* сохраняется не более 15% видов. Накопленный нами опыт свидетельствует, что шансы на успех возрастают, если выделение в культуру проводить непосредственно из свежих молодых образцов (стром), имея для этого специальные питательные среды и портативное экспедиционное микробиологическое оборудование.

Возвращаясь к вопросу об отечественных ресурсах клавиципитациевых грибов, необходимо сказать, что юг Приморья не единственное, хотя и наиболее крупное, место их сосредоточения. С учетом данных о колоссальном видовом разнообразии энтомопатогенных грибов в Японии (работы Y. Kobayasi & D. Shimizu, 1939–1983; и др.) было резонно надеяться на интересные находки микромицетов различных таксонов на близлежащих островах Курильской гряды. Проведенные (в рамках проекта ISTC 2338p) двухнедельные рекогносцировочные работы на Кунашире в середине лета 2002 г. позволяют считать этот остров важным местом сохранения в дикой природе генофонда редких видов энтомопатогенных грибов. Найдено около 30 видов (в том числе, и неизвестные в других регионах России), но, очевидно, их намного больше. Особого внимания заслуживают здесь лесные распадки на Охотском побережье между бухтой Алехина и мысом Столбчатым. Биогеографическая самобытность этой части острова давно известна ботаникам и энтомологам. Но значительная часть этой уникальной территории находится за пределами Курильского заповедника и в последние годы подвергается все большему антропогенному воздействию.

Несомненный интерес для сбора видов *Cordyceps* представляют горные леса на Зап. Кавказе, где экологические условия и обилие членистоногих очень благоприятны для развития энтомопатогенных грибов. Наши исследования в 2001–2004 гг. показали следующее. В Сочинском районе Краснодарского края найдены анаморфный гриб *Isaria (Paecilomyces) coleopterora* (известный из Ганы, Африка) и несколько видов *Cordyceps* и *Torrubiella*. В Мостовском районе Краснодарского края (долины Ходзи и М. Лабы) обнаружены 3 вида *Cordyceps* (*C. clavulata*, *C. corallomyces* и *C. stylophora*), из которых 2 последних вида были известны в России только на юге Д. Востока. Обнаружен новый вид рода *Torrubiella*, отмечено несколько интересных грибов из анаморфных родов *Hirsutella*, *Isaria* и др. В Карачаево-Черкесии (долина реки Б. Лаба) и 4 вида *Cordyceps* и ряд анаморф (*Hirsutella* spp., *Tolyptocladium inflatum*, *T. cylindrosporium* и др.).

Телеоморфы некоторых видов *Cordyceps* очень редко можно найти и в более северных районах Евр. ч. России. Так, в Подмосковье отмечены *C. militaris*, *C. gracilis*, *C. clavulata*, *C. ophioglossoides* и *C. capitata* (Борисов, 2005). Интересные образцы недавно были любезно предоставлены авторам из Ботанического института РАН Е. С. Поповым и Н. В. Псурцевой: *C. myrmecophila* (Ленинградская обл., окрестности Выборга), *C. longisegmentis* (Новгородская обл., Валдайский национальный парк), *C. ophioglossoides* (Ленинградская обл., Нижнесвирский заповедник и Приозерский р-н), *C. militaris* (Псковская, Ленинградская обл.).

Как видно из представленных материалов, в России есть собственные богатые ресурсы грибов р. *Cordyceps*. Главное, чтобы они, наконец, стали востребованными, подобно тому, как это происходит в Китае, Южной Корее, Японии, где существует сеть научных центров по изучению биоразнообразия и фармакологических свойств грибов рода *Cordyceps* (Liang et al., 1997; Ocuda T., 2002). Именно в этих странах достигнуты наибольшие успехи в создании медицинских препаратов на основе клавиципятицевых грибов. В России такие работы только начинаются (см. тезисы Ф.Ш. Исангалина с соавт. в настоящем сборнике).

ШЛЯПОЧНЫЕ ГРИБЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЛЕЧЕБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

Горовой Л.Ф.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН

Украины

Киев, Украина

Научно-производственная фирма «Микотон-Агликон»

Боярка, Украина

Основная ценность шляпочных грибов, на наш взгляд, состоит не в килокалориях или процентах содержания белка, а в наличии биологически активных веществ с целебными свойствами.

Микроскопические грибы дали человечеству много антибиотиков, в том числе знаменитый пенициллин, которые спасли миллионы жизней. В отличие от микроскопических грибов, макроскопические (шляпочные) грибы изучены слабо. Эта большая и разнообразная группа организмов, насчитывающая более 15 тысяч видов, только недавно начала привлекать внимание исследователей-фармакологов. Наибольший интерес к этим грибам проявляют в странах Востока.

В Европе традиции использования шляпочных грибов в медицине слабые. Большинство людей здесь с опаской относятся к грибам. Этот страх психологически обоснован печальным опытом многочисленных отравлений ядовитыми грибами. Безусловным доверием в России, Белоруссии, Украине и Польше пользуются лишь несколько видов диких и культивируемых съедобных грибов, а в народной медицине используется только хорошо известный трутовый гриб чага – *Inonotus obliquus*. В официальной медицине узаконен только препарат бифунгин из чаги.

Такое недоверие к грибам, как говорит история, было не всегда. Античные греки широко использовали грибы в своей медицинской практике. В трудах великих античных врачей Гиппократ, Плиния, Диоскорида и Галена приводится около 20 видов целебных грибов и рецептов их использования, которые применяли много веков. Например, такой гриб, как трутовик лекарственный – *Fomes officinales*, вплоть до средневековья рассматривался как панacea. Он использовался при лечении многих заболеваний и был обязательным компонентом в рецептах для защиты от различных отравлений. Однако эти знания были практически полностью забыты.

В Европе возрождение интереса к целебным свойствам грибов началось в 50-е годы прошлого столетия в связи с поисками антираковых препаратов. Изучение онкостатического действия грибов на лабораторных животных показало, что субстраты из грибов способны подавлять

рост раковых клеток. Многолетние исследования привели к созданию в 60-е годы эффективного препарата кальвацин, который выделили из гигантского дождевика — *Calvacia (Langermania) gigantea*. Работы с грибами интенсивно продолжаются и до настоящего времени в США в Национальном институте рака. В результате онкостатические вещества были обнаружены у более, чем 200 видов шляпочных грибов.

Совсем иное отношение к использованию грибов в питании и медицине на Востоке. Традиции их применения в Китае, например, насчитывают более четырех тысячелетий. Эти традиции и особая восточная культура применения получили в последние десятилетия новое мощное развитие. В настоящее время в Китае культивируют более 20 видов съедобных грибов, а в китайской медицине используется около 100 видов грибов. Многие грибы в Китае относят к высшему классу лекарств — укрепляющим средствам, восстанавливающим здоровье.

Безусловным лидером среди целебных грибов на Востоке является трутовик лаковый — *Ganoderma lucidum*. В Китае трутовик лаковый был очень дорогим «императорским» грибом. Сейчас его выращивают в промышленных масштабах и продают повсеместно как в целом виде, так и в виде различных настоек, таблеток и порошков. На Востоке этот гриб является настоящей панацеей — это гриб долголетия или даже бессмертия. Такое отношение наверняка оправдано получаемыми эффектами. Лаковый трутовик тысячи лет используют в Китае для лечения печени (гепатиты), воспаления почек (нефриты), при высоком кровяном давлении, артритах, ринитах, неврастении, бессоннице, для лечения язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, при головокружении, прогрессирующей мышечной дистрофии и многих других заболеваний. В последние годы этот гриб активно используют при возрастных дегенеративных и раковых заболеваниях в качестве иммуномодулятора, при коронарных заболеваниях сердца, аритмии, повышенном отложении холестерина. Он показал высокую эффективность при лечении многих заболеваний легких, хронических бронхитов, бронхиальной астмы, аллергических заболеваний. Этот гриб встречается и в европейских лесах, но он мало известен и практически не используется.

Кроме того, в Китае, Японии, Корее и Малайзии используют в медицине много других видов грибов. Из них можно упомянуть появившийся на нашем рынке гриб кордицепс — *Cordyceps*. Грибы рода Кордицепс обладают сильными целительными свойствами напоподобие женьшеня и их используют для восстановления жизнеспособности и жизненной энергии после крайнего истощения и длительной болезни. В современном Китае препараты из этих грибов применяют при лечении заболеваний легких, почек, нарушениях менструальных циклов, для улучшения кровообращения, для поддержания жизненной энергии стариков. Известны публикации, согласно которым в диету знаменитых китайских спортсменов при подготовке к олимпийским играм и

мировым чемпионатам обязательно включают гриб кордицепс и некоторые другие грибы.

В Японии особенно популярен съедобный гриб шиитакэ – *Lentinus edodes*, который обладает многими целебными свойствами и широко используется в медицине. Шиитакэ является своего рода второй грибной суперзвездой на Востоке. В Японии он используется, по меньшей мере, две тысячи лет, а в Китае известен еще раньше. Кроме целебных свойств он обладает великолепными вкусовыми качествами и широко применяется в кулинарии. Этот съедобный гриб культивируется в больших количествах и поставляется на рынки многих стран мира. Его широко применяют при ослабленном иммунитете при различных заболеваниях. Особенно активно его используют при раковых заболеваниях. Он также обладает сильными антивирусными способностями. Относительно недавно из этого гриба был получен мощный онкостатический фармпрепарат лентинан. В Украине и России этот гриб в природе не встречается, но предпринимаются попытки его выращивания в культуре.

В Японии широко известен препарат здоровья из гриба кориолл многоцветный – *Coriolus versicolor*. Он способствует понижению холестерина в крови и повышает иммунитет. Из этого гриба получен эффективный фармацевтический препарат кристин. Кориол многоцветный широко распространен в Европе в природных условиях, но в лечебных целях не используется.

Современные исследования в разных странах показали, что целебные шляпочные грибы являются хорошими адаптогенами, повышающими устойчивость организма к различным стрессам, обусловленным химическими загрязнениями среды, шумом, нервными и физическими перегрузками, инфекционными компонентами. Основной функцией адаптогенов является регулировка гормональной системы организма, главным образом адреналиновой функции, более эффективного усвоения кислорода, что положительно отражается на нервной и иммунной системах.

Многие виды целебных грибов выращивают в искусственных условиях или в промышленных ферментерах на жидких питательных средах для получения биологически активных веществ. Для этого используют более 100 различных видов шляпочных грибов. Безусловным лидером в разработке новых лекарственных препаратов и БАДов на основе грибов является Япония, обширные современные исследования проводятся также в Китае и Корее. На рынке этих стран появился ряд эффективных препаратов грибного происхождения, например, лентинан, кристин, шизофилан, грифолан и др. Об эффективности этих препаратов красноречиво говорят их позиции на фармацевтическом рынке. Например, лентинан и кристин быстро заняли около 30 % продаж среди множества онкостатических препаратов.

Грибные ресурсы Украины достаточно. Некоторые традиционные виды грибов выбираются в лесах практически полностью и их запасы не успевают восстанавливаться. Ценные свойства многих других грибов заготовителям не известны и их ресурсы не используются. Грибоводство в Украине развито слабо. Реально на рынке имеется только два вида культивируемых грибов – шампиньон и вешенка. Из отечественных БАДов на основе грибов нам известно только три препарата: Мипро-вит, Микодар и Микотон. В нашей разработке препарата Микотон сконцентрирован опыт античной и восточной медицины. Этот препарат разнообразен. Они используются населением и заготовительными предприятиями односторонне получен из трутовика *Fomes fomentarius* и по эффективности он не уступает лаковому трутовику и трутовику лекарственному. Шляпочные грибы являются перспективными объектами для создания новых БАДов и их применения в пищевой промышленности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИЯ ВЕШЕНКИ

*Евдокимова О.А., Польских С.В., Аксеновская В.Е.
Воронежский государственный аграрный университет
им. К.Д. Глинки,
Лаборатория биотехнологии ВГАУ
Воронеж*

Использование в биотехнологическом производстве с целью получения плодовых тел и биомассы пищевого назначения в последние годы получила развитие как за рубежом так и в России. В настоящее время для производителя очень важной проблемой является качество мицелия, материальные и временные затраты для его получения. Для успешного и рентабельного производства экологически чистых грибов, необходимо не только соблюдение технологических приемов, но и большое значение имеет состояние и активность культуры, являющейся основой для производства посевного мицелия.

Одним из путей получения высококачественного мицелия является использование в процессе выращивания культуры гриба биологически активных веществ и минеральных солей, способных посредством влияния на метаболические процессы клетки, и активацию работу ферментов лигнолитического комплекса повышать устойчивость мицелиальной культуры в условиях стресса и ее конкурентоспособность.

В связи с этим целью нашей работы создание экспериментальной среды для увеличения скорости роста мицелия вешенки, повышения

активности ферментов лигнолитического комплекса, повышения урожайности.

В качестве объекта исследования использовали промышленный гибридный штамм вешенки НК-35. Скорость роста мицелия на экспериментальной агаризованной среде измеряли по методу Заболотного с учетом ростового коэффициента с интервалом в двое суток. Табл. 1 .

Таблица 1.

Состав среды	Диаметр колонии, мм	Средняя скорость, см/сут	Высота колонии, мм	Плотность колонии	(РК)
1. БС КОНТРОЛЬ	82,0	0,91	75,0	1	63,0
2. БС+ИМ.+В1 МПК	90,0	1,0	80,0	2	160,0
3. БС+Э+В1МПК	85,5	0,95	65,0	2	111,9
4. СУСЛО СРЕДА	91,1	1,012	0,86	3	261,1
5. ЭКС. СРЕДА	94,4	1,048	0,91	3	286,3

В результате проделанной работы предложена базовая питательная среда для выращивания мицелия вешенки обыкновенной. В состав которой, агаризованной сусло среды входят следующие компоненты: витамины В1, минерально-питательный комплекс и биорегулятор иммуноцитопит.

Таким образом, было выявлено, что все дополнительно введенные на начальном этапе питательные компоненты обладают стимулирующим действием не только на рост мицелия вешенки, но и последующую стадию образования плодовых тел.

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *LAETIPORUS SULPHUREUS* В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Ефременкова О.В., Тихонова О.В., Ершова Е.Ю., Куляева В.В., Катруха Г.С., Камзолкина О.В., Иванов А.А.
 ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН
 МГУ им. М.В. Ломоносова
 Москва

Современная медицина проявляет значительный интерес к биологическим ресурсам с целью поиска новых лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков. Особый интерес представляют редкие и малоизученные в этом отношении виды грибов. Базидиальный гриб *Laetiporus sulphureus* (Fr.) Bond et Sing, или серно-желтый трутовик,

встречается на живых и сухостойных стволах деревьев лиственных пород, у которых вызывает бурую сердцевинную гниль. *L. sulphureus* привлекает внимание исследователей в основном именно благодаря своим фитопатогенным и ксилотрофным свойствам. Кроме того, плодовые тела *L. sulphureus* давно известны в народной медицине в качестве лекарственного средства, обладающего антисептическими свойствами, но природа действующих веществ не была установлена.

С целью выяснения природы антимикробной активности нами были исследованы пять штаммов *L. sulphureus*. Для этого была разработана среда для глубинного культивирования, позволявшая получать высокий уровень биосинтеза антимикробных веществ. Глубинное культивирование грибов осуществляли при температуре 28° С в колбах объемом 750 мл, объем среды составлял 150 мл. Для аэрирования колбы помещали на качалку со скоростью вращения 220 об/мин. Анализ антимикробной активности проводили с 7 по 35 сутки. При глубинном культивировании на данной среде были отмечены следующие особенности: антимикробная активность достигала высокого уровня к седьмым суткам культивирования и практически не менялась в течение последующих четырех недель; антимикробная активность коррелировала с закислением среды до рН 2,5–2,8, что позволяло предположить кислотный характер антимикробных веществ. Показано, что при глубинном и поверхностном культивировании все пять штаммов проявляют антибиотическую активность в отношении широкого спектра бактерий (включая штаммы, устойчивые к беталактамным и гликопептидным антибиотикам), и не оказывают воздействия на грибы. Антимикробные спектры были одинаковыми у всех исследованных штаммов *L. sulphureus*.

Химическое изучение веществ, проявляющих антимикробные свойства, показало, что в основном антимикробное действие обеспечивалось за счет синтеза органических кислот, относительное содержание которых постоянно менялось — содержание некоторых кислот достигало максимума в культуральной жидкости к 12 суткам и затем снижалось, концентрация других возрастала на протяжении всего срока наблюдения (см. табл.).

Кислота	Содержание в исходной среде (мг/л)	Содержание кислот (мг/л) на разные сутки роста:		
		12	14	19
Кислоты, полностью потребляемые грибом из среды				
Яблочная	320	0	0	0
Уксусная	240	0	0	0
Лимонная	Следы	0	0	0
Кислоты, содержание которых в среде за счет жизнедеятельности гриба возрастает к 12 суткам и затем снижается				
Пропионовая	404	538	384	260
Масляная	700	1220	468	270
Изомасляная	1400	1780	1220	920
Изовалериановая	340	750	562	483
Валериановая	0	2700	560	170
Неидентифицированная	27 ед	100 ед	30 ед	16 ед
Кислоты, отсутствовавшие в среде или присутствовавшие в небольшом количестве, содержание которых практически не менялось или постоянно нарастало за счет жизнедеятельности гриба				
Молочная	0	2500	2700	2750
Щавелевая	48	9400	12000	36000
Гиппуровая	0	36	59	78

Рост штаммов *L. sulphureus* в глубинной культуре носит диффузный характер, причем одновременно даже на поздние сроки культивирования помимо старых лизировавшихся колоний также присутствуют молодые колонии. Источником углерода для возобновляющегося роста *L. sulphureus*, по-видимому, служат органические кислоты (в первую очередь, валериановая).

В процессе культивирования *L. sulphureus* в культуральной жидкости с большим превышением преобладает щавелевая кислота, концентрация которой возрастает с 12-е по 19-е сутки культивирования в 3,8 раза и достигает величины 3,6%, при этом наблюдается ее кристаллизация и выпадение в осадок.

ИЗУЧЕНИЕ МИКОФИЛЬНЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОРЯДКА *BOLETALES*

Иванов Д.М.

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет

В некоторых случаях плодовые тела макромицетов являются субстратом для развития своеобразной экологической группы микофильных грибов. Плодовые тела, пораженные такими грибами, утрачивают характерные морфологические признаки, приобретают необычную форму и обозначаются термином «глухие» грибы.

По определению Б.П. Василькова (1948, 1995) под термином «глухие» грибы понимают различные съедобные грибы, у которых спороносный слой (трубчатый или пластинчатый), расположенный на нижней поверхности шляпки, бывает частично или полностью затянут, «заткан» мицелием паразитных сумчатых грибов из рода *Hypomyces*. Однако, в настоящее время термин «глухой» гриб используется для обозначения всех гименомицетов, плодовые тела которых поражены микофильными грибами из разных таксонов.

Цель работы заключалась в изучении особенностей поражения грибов-хозяев из пор. *Boletales* микопатогенными грибами.

Материалом для исследования послужили образцы из микологического гербария лаборатории микологии и фитопатологии им. А.А. Ячевского ВИЗР (ЛЕР) и сборы автора.

Были проанализированы следующие образцы:

Sepedonium chrysospermum (Bull.) Link

1. СПб, на *Boletus variegatus* 1910, Leg., Det. Каменогородский
2. Владимирская губ., Ковровский уезд, с. Любец, на *Boletus* sp., 05.08.1917, Leg., Det. В. Оршанская
3. Седьмой квадрат заповедника «Лес на Ворскле», на шляпочном грибе из группы *Boletus*, 21.07.1934, Leg., Det. Non perlegere.
4. Архангельская обл., с-х. от станции Губино, на моховике, 28.07.1942, № 84. Leg., Det. Non perlegere.
5. Республика Карелия, г. Кемь, окр. пос. Рабочеостровск, мыс полуострова слева от о. Октябрьской Революции, на бараньих лбах, одиночные сосны, поросль березы, на *Suillus luteus* (L.: Fr.) S.F. Gray, 04.07.2003, Leg., Det. Иванов Д.М.
6. Ленинградская обл., Гатчинский р-н, ст. Чаша, левый берег р. Кременка, смешанный лес: сосна, береза и ольха, на *Xerocomus subtomentosus* (L.: Fr.) Quil., 23.07.2004, Leg., Det. Иванов Д.М.
7. Ленинградская обл., Гатчинский р-н, ст. Чаша, правый берег р. Кременка, березовый лес в подросте ель, на *Paxillus involutus* (Batsch: Fr.) Fr., 12.08.2005, Leg., Det. Иванов Д.М.

Verticillium terrestre (Link) Lindau.

1. Бельгия, на мхе, октябрь 1913, Leg., Det. C. Torrend
2. Ленинградская обл., Гатчинский р-н, ст. Чаша, берег р. Кременка, осиновый лес, на *Leccinum albobostipitatum* H.C. den Bakker & Noordel, 08.08.2005, Leg., Det. Иванов Д.М.

Наблюдения в природе за пораженными плодовыми телами *X. subtomentosus* показывают, что мицелий *S. chrysospermum* сначала быстро обрастает их. Затем происходит заполнение спорокарпа золотисто-желтыми хламидоспорами диаметром 12-16 мкм, развивающимися в огромном количестве. Известно, что мицелий микофильного гриба обладает высокой проникающей способностью, а хламидоспоры длительно сохраняются в почве.

О практическом значении микофильных грибов рода *Huophomyces* из литературы известны следующие данные. При выращивании шампиньонов *S. chrysospermum* образует коричнево-желтый слой между покровной почвой и компостом, что приводит к исчезновению мицелия шампиньона из покровного слоя и гибели примордиев. В то же время культура гриба *Huophomyces rosellus* (Fr.) Tul. используется для получения желтых, красных и фиолетовых красителей, применяемых в пищевой промышленности. Установлено, что цвет культуре придает целый комплекс пигментов, состав которых зависит от условий выращивания.

Рассматриваемые виды поражают субстрат различным образом. Если *S. chrysospermum* поражает сформированное плодовое тело, что в итоге приводит к замещению всех тканей на хламидоспоры гриба и такое образование по форме похожее на плодовое тело сохраняется долго, то поражение, вызванное *V. terrestre*, носит иной характер.

У нормально развивающихся плодовых тел *L. albobostipitatum* шляпка подушковидная. Пораженные спорокарпы развиваются таким образом, что шляпка становится сначала плоско-выпуклой, а затем вдавленной.

При внешнем осмотре создается впечатление отсутствия трубчатого слоя и замещения его недифференцированной губчатой массой. Однако, на продольном срезе хорошо заметно, что трубчатый слой развит, и трубочки только снаружи заполнены мицелием паразитического гриба. Поражения других частей плодового тела поверхности шляпки и ножки при внешнем осмотре не наблюдается. Шляпка зрелого пораженного гриба в 2 раза меньше, чем у такого же здорового, а ножка несколько уже. В течение 2004–2005 г.г. было обнаружено пять «глухих» плодовых тел на расстоянии до 5 м друг от друга. Участки плодоношения «глухих» и нормальных спорокарпов не перекрывались.

Нижняя поверхность гимения покрыта плотной мицелиальной массой из бесцветных переплетающихся гиф диаметром 2,0–2,5 мкм, на которой развиваются конидиеносцы с одиночными эллиптическими гиалиновыми конидиями 3,0–3,5 x 4,4–4,6 мкм. Кроме того, поражение распространяется на весь гимениальный слой. На поперечном срезе видно, что просветы трубочек пересекает мицелий паразита, а в полости трубочек развиваются конидиеносцы. Иногда вместо кони-

дий на конце гиф мицелия наблюдаются оидиоподобные образования. Споры *L. albostipitatum* нормального размера, но развиваются в очень незначительном количестве. При гербаризации на нижней поверхности гимения хорошо видна белая пленка.

Таким образом, установлены следующие особенности поражения микофильным грибом *V. terrestre* плодовых тел *L. albostipitatum*: изменение формы шляпки и размеров плодового тела с сохранением способности к росту, деформация гимениального слоя, нарушение нормального созревания спор. Очевидно, что поражение развивается, начиная с этапа формирования примордия в почве, и дальнейшие успехи в изучении этого явления связаны с получением новых данных об онтогенезе плодовых тел трубчатых грибов.

Открытым остается вопрос о вреде использования глухих грибов *L. albostipitatum* в пищу, которое нельзя исключать, вследствие того, что деформация затрагивает только гимениальный слой и не носит столь явный характер как в случае поражения грибов порядка *Boletales* *S. chrysospermum*.

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА НА ОСНОВЕ УТИЛЬНОГО МЯСНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ БАКТЕРИЙ И МИКРОМИЦЕТОВ

Калягина С.Ю., Блинкова Л.П.
НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН
Москва

Поиск дешевых и недефицитных источников белка для микробиологических питательных сред остается актуальной задачей.

Нами была разработана полупроизводственная технология приготовления питательной среды из мясного сырья, непригодного для питания — отходов мясоперерабатывающей промышленности. Среду, основа которой получена путем шадящего кислотного гидролиза с последующим аутолизом, изучали по физико-химическим и ростовым свойствам. Экспериментальная среда была менее окрашена и имела более низкое содержание общего и аминного азота по сравнению коммерческим мясопептонным бульоном. В количественном содержании микроэлементов статистических различий между этими средами не выявлено.

Для штаммов *Enterobacteriaceae* и *Staphylococcus* spp. экспериментальная среда не уступала традиционным средам на основе мяса или превосходила их по ростовым и другим биологическим свойствам. Например, показатель чувствительности среды составил 10^{-6} – 10^{-7} .

Для культивирования прихотливых микроорганизмов, таких как *Corynebacterium diphtheriae*, требовалось добавление 5% сыворотки крупного рогатого скота. При многократных пересевах штаммы, ис-

пользованные в эксперименте, не изменяли своих морфологических, физиолого-биохимических и серологических свойств. Для штаммов *Enterobacteriaceae* экспериментальная среда оказалась предпочтительнее среды МПА, так как на ней при длительном выращивании культуры, как правило, находились в стабильной S-форме.

Экспериментальная среда обладала преимуществом перед традиционными средами при глубинном культивировании с целью получения биомассы, так как удельный выход антигена по отношению к единице биомассы был на ней выше. Поскольку экспериментальная среда имела низкое содержание белка, это позволяло получать растворимые ключевые антигены бактерий с более высокой степенью очистки. Такая среда (с вариациями значений pH) пригодна для широкого круга микроорганизмов, в том числе и микромицетов (*Candida spp.* и *Aspergillus spp.*).

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х.
Кабардино-Балкарский государственный университет
Нальчик

В настоящее время экологами все более осознается тот факт, что грибы контролируют обширное поле важных экосистемных функций — первичной и вторичной продуктивности экосистем, регенерацию биофильных элементов и средообразование (Мухин, Веселкин, Брындина и др, 2000). Понять механизмы функционирования лесных экосистем можно только с учетом всех составляющих компонентов. Комплексное описание взаимодействия всех без исключения компонентов автотрофного и гетеротрофного блоков (растений, грибов, микроорганизмов, насекомых, млекопитающих и др.) могло бы дать более полную картину функционирования лесной экосистемы (Бондарцева, 2000).

В районе исследования выделяется пояс широколиственных лесов (700–1600 м над ур. м.), основу которого составляют буковые, буково-грабовые, дубово-буковые, грабовые и дубовые леса; пояс нагорных ксерофитов (1200–1800 м) представлены фриганоидной растительностью; субальпийский пояс (1600–2600 м), охватывающие луга, кустарниковые сообщества, березняки, высокотравье, петрофитные группировки; альпийский пояс (2600–3700 м), где распространены низкотравные луга, альпийские ковры, пустоши, петрофитные группировки; нивальный пояс (3200–5200 м) (Шхагапсоев, Волкович, 2002).

По способности осваивать экологические ниши, включающие органические субстраты, грибы, не имеют себе равных.

Экологическая функция ксилотрофных базидиомицетов в лесных экосистемах характеризуется рядом параметров. Большая часть представителей развивается на древесине, находящейся на различной стадии разложения — от свежего отпада до почти гумифицированных остатков. Относительно небольшое число видов растет на живых стволах и вызывает ствольные и корневые гнили деревьев преимущественно зрелого возраста.

Все ксилотрофные базидиомицеты, способны разлагать целлюлозу, а большинство видов имеет в составе ферментных комплексов экстрацелюлярные оксидазы, разлагающие и лигнин.

Ксилотрофные базидиомицеты редко оказываются специализированными к отдельным видам или родам деревьев. Примером узкой специализации может служить *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr) Karst. на березе, а *Leatiporus sulphureus* (Fr.: Bond.) Sing. встречается на дубе, грабе и буке, тогда как в Сибири он распространен на лиственницах и обладает широким субстратным диапазоном.

При рассмотрении морфологических особенностей базидиомицетов, приуроченных к определенным экологическим нишам, наблюдается следующее: при развитии на живых деревьях грибы могут произрастать на ветвях, стволе, комлевой и корневой зонах.

На ветвях, особенно средних и более тонких, обычно развиваются виды, имеющие распростертые базидиомы с гладким гименофором (*Sterium subtomentos* Pouzar.), базидиомы однолетние.

У корневой шейки располагается *Phellinus igniarius* (L.: Fr.) Quel., базидиомы от распростерто-отогнутых до сидячих, многолетние. Остальные виды, вызывающие ствольные гнили, и связанные преимущественно с развитием на живых деревьях, хотя часть их них может развиваться и на мертвой древесине, они образуют крупные однолетние базидиомы (*Fistulina hepatica* (Sch:Fr) With, *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil., *Leatiporus sulphureus* (Fr.: Bond.) Sing., *Oxyporus populinus* (Fr.) Donk.).

Некоторые виды, способны, годы расти на живых деревьях, не образуя плодовых тел и вызывая скрытую гниль. Такие стратегии проявляют многие виды, поселяющиеся на ослабленных живых деревьях и продолжающие свое развитие на сухостое, пнях срубленных деревьев или свежем валеже. Они однолетние или зимующие, и образуют распростерто-отогнутые или сидячие базидиомы с трубчатым гименофором (*Bjerkandera adusta* (Willd.: Fr.) Karst., *Cerrena unicolor* (Bull.: Fr.) Murr., *Corioloopsis trogii* (Berk.) Domanski., *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr) Karst. *Sterium hirsutum* (Willd) Fr., *Trametes suaveleus* (L.: Fr.) Fr.), виды часто образуют базидиомы спорулирующие один или два сезона, а затем уничтожаются насекомыми. Эта экологическая ниша также характерна для некоторых видов с многолетними слоистыми базидиомами: *Fomes annosa* (Fr.)Karst, *F. fomentarius* (Fr.) Fr., *Fomitopsis pinicola* (Sw.: Fr.) Karst.

Наиболее распространенные виды в лесных экосистемах западной части Центрального Кавказа – *Fomes fomentarius* (Fr.) Fr., *Fomitopsis pinicola* (Sw.: Fr.) Karst., *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr) Karst., *Ganoderma lipsiense* (Batsch) G. F. Atk., *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pil., а такие виды как *Daedalea quercina* Fr. и *Daedaleopsis confragosa* (Bolton.: Fr.) Schrot. растут на слабо разрушенной древесине, но встречаются и на полянах в пойменной зоне.

Виды ксилотрофных базидиомицетов в лесных экосистемах западной части Центрального Кавказа поселяющиеся на живых деревьях или свежем отпаде, со временем меняют химический состав древесины настолько, что не могут продолжать свое развитие. Происходит сукцессия видов-деструкторов: первичные разрушители уступают место более конкурентоспособным в изменившихся условиях. Ферментативный комплекс грибов-деструкторов древесины определяет продолжительность использования ими одного субстрата, так и возможность перехода на другие.

Таким образом, грибы контролируют множество экосистемных функций, поэтому изучение закономерностей развития микобиоты рассматривается нами в качестве одной из наиболее актуальных проблем современной экологии.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ РОДА GANODERMA P. KARST

Круподерова Т.А.

*Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины
Киев, Украина*

Ухудшение экологической ситуации в Украине увеличивает с каждым годом потребность лечебно-профилактических и лекарственных препаратов из экологически чистого сырья. Результаты экспериментальных микологических исследований указывают на возможность использования высших базидиальных грибов в качестве перспективных объектов современной фармакологии.

Базидиомицеты составляют примерно 26% от числа известных 78211 видов грибов (Ainsworth, 2001) и более 200 из них имеют терапевтическое действие (Бухало и др., 1996; Даниляк, 1996; Wasser, 2003; Ikewawa, 2003). Лечебно – профилактические свойства были установлены для Basidiomycota из родов *Coprinus*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Panus*, *Pleurotus*, *Trametes* и др.

Представители рода *Ganoderma* являются перспективными продуцентами биологически активных веществ. В мире описано свыше 250 видов р. *Ganoderma* (Wasser, 1997). Наличие различных макроморфологических признаков, и, в то же время, отсутствие микроморфоло-

гических различий, усложняют идентификацию видов *Ganoderma*. Так, молекулярные исследования *G. lucidum*, используемого в Азии для производства лечебно – профилактических добавок, показали, что он включает в себя достаточно большое количество отдельных видов (Revarden, 2005). Результаты изучения ДНК *G. lucidum*, растущих на европейском и американском континентах, свидетельствуют о существовании комплекса близких, трудно отличимых друг от друга, видов *G. lucidum*: европейский *G. valesiacum* Boud.; *G. ahamdii* Stey., описанный в Пакистане; северно – американские виды *G. tsugae* Murrill и *G. oregonense* Murril и другие виды – *G. resinaceum* Bound., *G. oerstedii* Fr., *G. praelongum* Murri (Moncaldo, 2005).

Результаты молекулярных исследований (Moncalvo, 2005) дают основание полагать, что большинство сборов *G. lucidum* в Северной Америке фактически соответствует таксону, который известен в Европе как *G. resinaceum*, в то время как *G. tsugae* из Северной Америки генетически очень близок к виду *G. lucidum*, встречающемуся в Европе.

Об использовании грибов рода *Ganoderma* в традиционной медицине стран Востока известно больше тысячи лет, однако систематический поиск фармакологических свойств начался только 25 лет назад. Возможность использования грибов рода *Ganoderma* в медицине обусловлена, прежде всего, наличием биологически активных соединений. Установлено, что в составе плодовых тел, мицелии, спор видов р.*Ganoderma* входит около 400 различных биологически активных соединений. Среди них идентифицировано 140 тритерпеноидов – кислородсодержащих терпенов с разными функциональными группами (спирты, альдегиды, кетоны, кислоты, сложные эфиры), и более 100 полисахаридов, относящихся к группе гликанов. Биологическая активность видов р.*Ganoderma* связана также с такими соединениями как стеролы, аминокислоты, растворимые протеины, эргостеролы, экстраклеточные ферменты, присутствие которых характерно для этого рода.

Доказано, что *G. capense*, *G. lucidum*, *G. japonicum* и *G. tsugae* проявляют седативную, гепатопротекторную, и детоксикантную активность печени (Chang & But, 1986; Who et al., 1992). Вещества, полученные из мицелия *G. capense*, успешно используют при лечении дерматомиоцита, склеродермы (Jones, 1992). Результатами экспериментов на животных доказана способность *G. japonicum* улучшать сердечную деятельность при повышенном давлении. Экстракт из мицелия *G. sinense* (Zhao) усиливает фагоцитарную способность иммунной системы и имеет противовоспалительное действие (Wan, 1992). Высокой активностью против грамположительных бактерий характеризуется *G. oregonense* и *G. applanatum* (Brian, 1951; Smania, 1999). Спиртовой экстракт из плодового тела *G. applanatum* проявляет активность также против грамотрицательных бактерий (Smania et al., 2001). Ikekawa (1969), Sasaki (1971) первыми исследовали противоопухолевые свойства *G. applanatum*. Thomas et al. (1999), Suayet et al. (2002) установили противомикробную способность

этого вида против *Escherichia coli*. Результатам исследования структуры и биологической активности метаболитов *Ganoderma lucidum* посвящено ряд обзорных статей и монографий. На Востоке панацеей считают *G.lucidum*, который используют при различных острых и хронических заболеваниях, нервных расстройствах, коронарной сердечной недостаточности, гепатитах, нефритах, язве желудка, при лечении рака, гипертонической болезни, воспалениях суставов, как диуретик, седативное и тонизирующее средство.

Мелко измельченные до консистенции пудры плодовые тела и мицелий *G.lucidum* в пакетиках для заваривания чая или в капсулах и таблетках производятся в Беларуси, России, Украине и в странах Юго — Восточной Азии.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАКРОМИЦЕТОВ РОДА *MORCHELLA* В ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЕ

Михайлова О.Б., Бухало А.С.

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины
Киев*

Сегодня в мире известно около 2000 видов макромицетов, плодовые тела которых можно употреблять в пищу, а у более чем 700 видов установлены лечебные свойства. Тысячелетиями эта группа грибов использовалась человеком для питания и лечения, сегодня же макромицеты являются перспективными для получения новых лечебно-профилактических пищевых продуктов и добавок, фармакологических препаратов и др. (Sytnik et al., 2002; Dasilva, 2005). Интенсивные исследования увенчались созданием эффективных противоопухолевых препаратов, получаемых из плодовых тел или биомассы грибов, выращенной на жидких питательных средах определенного, стабильного химического состава (Chang, 2004; Wasser, Didukh, 2004). Плодовые тела, мицелий и споры лекарственных грибов содержат различные биоактивные компоненты, которые включают главным образом тритерпены, полисахариды, нуклеотиды, стеролы, жирные кислоты, белки, пептиды и микроэлементы.

Макромицеты с лекарственными свойствами служат основой для создания функциональных пищевых продуктов, укрепляющих иммунитет и предупреждающих многие заболевания. Созданию биоактивных добавок (БАД) на основе лекарственных съедобных грибов уделяется все больше внимания в микологических и медикобиологических исследованиях, проводимых сегодня в Украине.

Большинство лекарственных макромицетов относятся к классу Basidiomycota, в меньшей мере это представители сумчатых грибов (Ascomycota). Среди последних, важное место занимают представители

семейства *Morchellaceae*, (порядок *Pezizales*), которые во многом отличаются по своим биологическим свойствам от базидиальных макромицетов. Широко распространенные на территории Украины и России грибы семейства *Morchellaceae*, известные как морели или сморчки, являются малоизученной в культуре группой грибов. В тоже время это одни из наиболее дорогостоящих и деликатесных съедобных грибов, во многих странах мира. Так на Американском континенте, цена за 1 кг сморчков в сезон сбора достигает 70 долларов США. Сморчки высоко ценятся за специфический нежный аромат и отменный вкус, большое содержание в плодовых телах белка (до 25%), витаминов группы В, пантотеновой кислоты, биотина, незаменимых аминокислот, необходимых для питания человека, в частности лизина, метионина, лейцина, изолейцина, треонина, валина и др. [Chang, Hayes, 1978; Ying et al., 1987]. Специальные исследования [Mau J.-L., 2005] показали, что вкусовые качества биомассы *M. esculenta*, полученной на жидких средах превосходит таковые плодовых тел. Известно, что употребление в пищу *Morchella conica*, *M. esculenta* повышает иммунитет, тонизирует работу желудочно-кишечного тракта, уменьшает воспаление, регулирует жизненную энергию [Ying et al., 1987; Hobbs, 1996; Денисова, 1998]. Метаболиты сморчков, полученные в искусственной культуре, имеют противоопухолевое действие [Semerdhieva, 1989; Duncan 2002; 2003]. *M. conica* также содержит вещества, которые не только укрепляют глазные мышцы, но и предотвращают помутнение хрусталика глаза. В Древней Руси сморчки использовали для лечения близорукости, возрастной дальнозоркости и катаракты. Сегодня в Московском центре фунготерапии на основе *M. conica* производится препарат «Фунго-Ши Сморчок», который уже прошел апробацию в офтальмологической клинике. У 60% пациентов, которые принимали препарат, зрение улучшилось на 20–30%, риск катаракты уменьшается на 80% и даже отмечены случаи просветления хрусталика.

Однако в Европейском регионе культивирование этих ценных лекарственных и деликатесных съедобных грибов пока не получило развития, что в значительной мере обусловлено недостаточной изученностью биологических свойств этих грибов.

Одним из наиболее важных и определяющих этапов технологии культивирования представителей семейства *Morchellaceae* является выращивание чистых культур на агаризованных питательных средах в вегетативной стадии роста, что требует знания их физиологических и морфологических особенностей. Так, до настоящего времени мало известно об условиях, при которых формируются в культуре склероции, тесно связанные с плодоношением сморчков. Для разработки эффективных методов их культивирования эти аспекты требуют дальнейших исследований

В Институте ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ на базе Национальной коллекции культур шляпочных грибов разрабатываются науч-

ные основы биотехнологии культивирования и практического использования важнейших видов лекарственных грибов, в том числе видов рода *Morchella*. Исследования биологических свойств этих грибов направлены на определение оптимальных условий их поддержания и сохранения в чистой культуре, проведения скрининга, подбор и оптимизацию питательных сред для культивирования селективированных штаммов.

Ранее мы сообщали (Михайлова, Бухало 2005 а, б.) о росте и культурально-морфологических особенностях представителей морелевых грибов на агаризованных средах различного состава и о микроструктурах вегетативного мицелия, исследованных в сканирующем электронном микроскопе. В настоящей работе приведены данные об энзиматической и антибиотической активности, а также о росте на жидких питательных средах в глубинной культуре видов рода *Morchella*.

Нами была изучена антибиотическая активность *Morchella angusticeps* шт.1833, *M. esculenta* шт.1755, *M. spongiosa* шт. 1838, *M. conica* шт. 1737, *M. crassipes* шт.1834. В качестве тест-культур были использованы *Bacillus subtilis* (В -901), *Pseudomonas aeruginosa* (В-900), *Candida albicans* (В-1918), *Staphylococcus aureus* (В-918), *E. coli* (В-906) (Коллекция Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ). Исследованные виды *Morchella* не проявили антибиотической активности, а у *M. spongiosa* шт. 1838 наблюдалась зона стимуляции роста *Bacillus subtilis*. Это может объяснять имеющиеся в литературе сведения, о случаях отравления плодовыми телами сморчков, на поверхности которых в большом количестве развиваются различные микроорганизмы, что при неправильной кулинарной обработке плодовых тел может быть причиной отравления.

Проведены качественные тесты на наличие у представителей семейства *Morchellaceae* (9 видов 25 штаммов) 10 энзимов, которые характеризуют метаболизм углеродных и азотных соединений (амилаза, целлюлаза, β -глюкозидаза, протеаза, кazeиназа, нитрат-редуктаза, уреазы, окислительно-восстановительные процессы (монофенол-оксигеназы, пероксидаза), липидов (липаза). У всех исследованных видов и штаммов отмечена четкая положительная реакция на эти энзимы. Наиболее интенсивно реакции на вышеуказанные энзимы проявлялись у *M. conica* и *M. esculenta*. Интересно, что у исследованных видов отмечена положительная реакция на нитрат-редуктазу, которая отсутствует у высших базидиомицетов.

Одним из перспективных направлений культивирования видов *Morchella* является выращивание мицелия и получения метаболитов этих грибов на жидких средах в глубинной культуре. При глубинном культивировании на 4 питательных средах различного состава было установлено, что наибольшее количество биомассы образуется на пивном сусле (4° по Баллингу). Наибольшая скорость роста и количество биомассы (до 14,64 г/л) на 7 сутки культивирования отмечены на пивном сусле у

шт. 1737 *M. conica* и у шт. 1755 *M. esculenta* (до 11,6 г/л). Штаммы видов *M. crassipes* та *M. spongiola* характеризовались медленным ростом и незначительной биомассой. Неблагоприятными для роста исследуемых видов были синтетические среды. Проведена работа по оптимизации условий глубинного культивирования отобранных штаммов *M. conica*, *M. esculenta* на комплексных средах. В результате скрининга отобраны наиболее активные продуценты биомассы (шт.1737 *M. conica*, шт. 1755 *M. esculenta*) для дальнейших исследований.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И ПОЧВЕННЫХ АЗОФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

Никитина В.Е., Цивилева О.М., Лощинина Е.А.

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
Саратов*

Создание искусственных микробных ассоциаций – перспективное направление в разработке эффективных биопрепаратов, поскольку это один из путей повышения устойчивости монокультур в отношении конкурентов, возбудителей болезней и других факторов, особенно в условиях стресса. Ксилотрофные базидиомицеты *Lentinus edodes* (шиитакэ) и *Pleurotus ostreatus* (вешенка устричная) занимают ведущие позиции по объему промышленного производства, известны своими ценными пищевыми качествами и перспективностью использования для получения медицинских препаратов. Интерес к этим культурам возрастает в связи с наличием у них ряда биологически активных веществ, положительно влияющих на организм человека и представляющих определенную фармакологическую ценность. Подобные лечебно-профилактические свойства грибов делают актуальной разработку альтернативных вариантов технологии их выращивания. В частности, единичные исследования посвящены совместной ферментации природного субстрата высшими грибами и бактериальными культурами. Симбиотические взаимодействия между базидиомицетами и бактериями могут быть основаны на возникновении определенных взаимовыгодных отношений (типа протокооперации). Бактерии рода *Azospirillum*, представители группы ризосферных бактерий, являются ассоциативными азотфиксаторами, стимулирующими рост и развитие растений посредством фиксации атмосферного азота и гормональной регуляции. В данной работе впервые экспериментально подтверждена возможность получения физиологически активного и конкурентоспособного мицелия *L. edodes* и *P. ostreatus* путем совместного культивирования его с *Azospirillum*

brasilense. Подобраны параметры выращивания двойных культур «базидиомицет-*A. brasilense* Sp7». В этих оптимизированных условиях проведены исследования по стимуляции роста *L. edodes* и *P. ostreatus*. Эксперимент проводили согласно промышленным стадиям культивирования грибов, изучали поведение совместных культур на агаризованных и жидких природных и синтетических средах, на твердых опилочно-зерновых субстратах. В процессе совместного роста проводили микроскопический анализ и визуальные наблюдения за развитием колоний. Культуру азоспирилл подсевали к культуре гриба разного возраста. Исследовали влияние *A. brasilense* Sp7 на устойчивость базидиомицетов к контаминантам при совместном культивировании. В результате установлено, что наиболее активное развитие мицелия по показателям линейной скорости роста на плотных средах и увеличения биомассы глубинной культуры происходил при возрасте посевной монокультуры гриба 5-7 сут, инокулированной жидкой культурой азоспирилл в объемном отношении 40:1 соответственно. Отмечалось абсолютное преимущество совместных культур в плане подавления заражения посторонней микрофлорой как на жидких, так и на плотных средах. При пересеве смешанных культур на зерновой субстрат наибольшее положительное влияние культуры клеток азоспирилл на развитие базидиомицетов наблюдалось при возрасте посевной двойной культуры 14 сут, проявлялось в более быстрой колонизации субстрата грибом и полном подавлении микроскопических конкурентов, в отличие от монокультур *L. edodes* и *P. ostreatus*. Возможно, снижение биотического влияния посторонней микрофлоры на мицелий шиитаке и вешенки происходило как благодаря большей физиологической активности мицелия, так и за счет угнетения метаболизма микромицетов продуктами метаболизма бактерий. Использование зернового мицелия, полученного на основе промежуточной двойной культуры «базидиомицет-*A. brasilense* Sp7», для выращивания плодовых тел приводило к увеличению урожайности шиитаке и вешенки. Последовательная инокуляция зернового субстрата монокультурами азоспирилл и базидиомицетов вышеуказанных положительных последствий не имела. Таким образом, в настоящей работе впервые показана эффективность совместного культивирования *L. edodes* и *A. brasilense*, *P. ostreatus* и *A. brasilense*.

СОХРАНЕНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ EX SITU ГЕНОФОНДА МАКРОМИЦЕТОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ИНТЕРЕС ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

Псурцева Н.В., Белова Н.В.

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
Санкт-Петербург*

Сохранение и поддержание ex situ генетических ресурсов имеет первостепенное значение для успешного развития биотехнологии в России. На недавно прошедшей в Москве международной научно-практической конференции «Биоразнообразие и генетические ресурсы России: методологические, правовые и экономические аспекты» была показана та громадная роль, которую играют биологические ресурсы в экономике страны и осознана необходимость повышенного внимания к проблеме их сохранения и поддержания. Сохранение ex situ генофонда макромицетов, представляющих интерес для медицины, является частью этой проблемы. Чистые культуры макромицетов находят все большее применение в медицине в качестве продуцентов биологически активных соединений для производства лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Наиболее конструктивным является использование для этих целей генофонда макромицетов, сохраняемого в коллекциях культур. Это повышает эффективность и надежность производства, так как поддержание культур в специализированных коллекциях дает возможность сохранения их в биологически активном состоянии за счет создания оптимальных условий поддержания и постоянного контроля. Работа с коллекционными культурами также уменьшает риск, связанный с ошибками как при идентификации исходных образцов грибов, из которых были получены культуры, так и при получении самих культур, поскольку, и идентификация образцов, и выделение в культуру проводится профессиональными микологами — специалистами в области таксономии и культуральных исследований.

Примером такой специализированной коллекции является ЛЕ (БИН) — Коллекция Культур Базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. В последние годы развитие Коллекции шло по пути сохранения ex situ видового и штаммового разнообразия макромицетов на основе эколого-таксономического подхода. В настоящее время в коллекционном фонде ЛЕ (БИН) поддерживается десятая часть видов макромицетов, отмеченных в России в природе — более 1600 штаммов 530 видов из 200 родов 55 семейств и 24 порядков агарикоидных, афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов и аскомицетов. Штаммы в Коллекции поддерживаются методом субкультуры в стеклянных пробирках на косяках сусло-агара. Замена традиционно используемых ватных пробок на пластиковые колпачки дала возможность увеличить сроки пересева культур до 5–7 лет. Дру-

гой способ хранения культур — под маслом, который использовался в коллекции ранее, постепенно заменяется на хранение во флаконах с дистиллированной водой. Основной объем культур Коллекции ЛЕ (БИН) составляют оригинальные штаммы базидиомицетов, произрастающих как на территории России, так и за ее пределами. Поддерживаются и штаммы, полученные из других коллекций. Выделение культур базидиомицетов проводится во время экспедиционных поездок или в лабораторных условиях. Идентификацию исходных образцов непременно осуществляют микологи-систематики, специалисты по соответствующим группам грибов. Такая кооперация позволяет надежно идентифицировать микологический материал, из которого получают культуры, и сохранять в гербарии ваучерные образцы базидиомицетов для выделенных штаммов. Наиболее изучены и представлены в Коллекции Базидиомицеты Европейской части России и Дальнего Востока. Большую часть коллекционного фонда составляют штаммы с территории России, однако есть немало культур из бывших республик, а также стран дальнего зарубежья. Российские штаммы были выделены, в основном, с заповедных территорий. По трофической принадлежности абсолютное большинство культур в Коллекции ЛЕ (БИН) это ксилотрофы, растущие в природе на древесине, и сапротрофы, обитающие на различных органических субстратах — гумусе, подстилке, листьях, коре, навозе, грибах. Поддерживаются и культуры эктомикоризных грибов, часть которых верифицирована молекулярными методами. Однако культивирование и поддержание эктомикоризных грибов *ex situ* всегда сопряжено с трудностями и требует особого подхода. Свыше 15 культур редких видов, включая *Creolophus cirrhatus*, *Grifola frondosa*, *Macrolepiota puellaris*, *Rhodotus palmatus* и др., хранятся в Коллекции. Список культур съедобных грибов Коллекции охватывает около 50 агарикоидных и афиллофороидных таксонов. Культуры токсичных и галлюциногенных грибов из *pp. Amanita*, *Galerina*, *Panaeolus*, *Psilocybe* и др. также поддерживаются в Коллекции. Выделение культур макромицетов, представляющих интерес для медицины, является одним из приоритетных направлений развития Коллекции. В ней поддерживается большинство видов макромицетов, с культурами которых проводятся исследования в медицинском направлении. Такие виды как *Cordyceps militaris* (2), *Dictyophora duplicata* (4), *Flammulina velutipes* (24), *Flammulina rossica* (9), *Fomes fomentarius* (17), *Fomitopsis officinalis* (2), *Fomitopsis pinicola* (25), *Ganoderma lucidum* (14), *Ganoderma applanatum* (13), *Grifola frondosa* (4), *Hericium erinaceum* (3), *Heterobasidion annosum* (6), *Hypoholoma fasciculare* (8), *Hypsizyguis ulmarius* (8), *Inonotus obliquus* (13), *Laetiporus sulphureus* (14), *Lampteromyces japonicus* (3), *Lentinula edodes* (12), *Lenzites betulina* (7), *Panellus mitis* (1), *Phellinus igniarius* (18), *Piptoporus betulinus* (7), *Pleurotus ostreatus* (26), *P. pulmonarius* (42), *Pycnoporellus fulgens* (2), *Pycnoporus cinnabarinus* (8), *Shizophyllum commune* (14), *Trametes hirsuta* (12), *T. suaveolens* (3), *T. versicolor* (4) являются объектами активного

изучения во всем мире. В скобках указано число штаммов, поддерживаемое в настоящее время в коллекционном фонде ЛЕ (БИН).

Исследования, проводимые с коллекционными культурами в БИН РАН, включают, прежде всего, верификацию штаммов на основе совокупности культуральных и молекулярно-генетических методов. Особенно это важно для культур, используемых в биотехнологии. Значение корректной идентификации еще более возрастает, когда культура используется для медицинских целей. Подтверждение таксономической принадлежности штаммов получают также путем выгонки плодовых тел в культуре. При решении таксономических задач применяются морфологические, физиологические и генетические исследования. Фонда Коллекции регулярно подвергается таксономической ревизии в соответствии с современными номенклатурными нормами. Проводится изучение биологической активности грибов, включающее поиск ферментов и биологически активных соединений. Свыше 700 штаммов были вовлечены в тематические исследования протеолитических ферментов – молокосвертывающего и фибрино- тромболитического действия; более 220 штаммов протестированы на активность окислительных ферментов – лакказ, пероксидаз и тирозиназ. Фитотоксическая активность была просмотрена у 250 коллекционных штаммов. Проводились также исследования противоопухолевых и галлюциногенных свойств ряда культур. В результате этих исследований были обнаружены штаммы, перспективные для биотехнологии и медицины.

Таким образом, воплощение концепции по сохранению разнообразия микобиоты *ex situ* дает основание надеяться на сохранение, поддержание и использование генетических ресурсов макромицетов России. Коллекционные культуры могут быть востребованы по обмену или на основе коммерческого сотрудничества и с успехом использованы для научных и практических, в том числе медицинских, целей.

Исследования в этом направлении поддерживаются грантами РФФИ 04-04-49813, ИНТАС 03-51-5889 и Программой ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002–2006 гг.

КСИЛОТРОФНЫЕ ГРИБЫ РОДОВ *GANODERMA* И *LENTINUS* – ПРОДУЦЕНТЫ ПОЛИСАХАРИДОВ

Пучкова Т.А., Смирнов Д.А.

*Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск*

Ксилотрофные базидиомицеты *p. Ganoderma* и *Lentinus* обладают ценными фармакологическими свойствами и могут использоваться в качестве продуцентов биологически активных веществ. Наиболее изу-

ченными из них являются используемые в народной медицине стран Юго-Восточной Азии грибы *G. lucidum* и *L. edodes*. Природные биополимеры этих грибов, в частности β -D-глюканы, обладают иммуномодулирующим, противоопухолевым, противовирусным, гипогликемическим и др. действием. Полисахариды *L. edodes* (лентинан (LEM)) используются в Японии как противоопухолевые и иммуномодулирующие средства, разрабатываются препараты на основе полисахарида *G. lucidum* — ганодерана. В последнее время внимание исследователей привлекают полисахариды, полученные не из плодовых тел, а из глубинного мицелия и культуральной жидкости. Большой интерес представляет и поиск новых продуцентов. Представители р. *Lentinus* — *L. lepideus* и *L. tigrinus* хорошо растут в условиях глубинной культуры. В мицелии *L. lepideus* обнаружен водорастворимый гликан, обладающий высокой иммуномодулирующей активностью. *L. tigrinus* используется для биоконверсии растительного сырья и получения кормовых препаратов, обогащенных грибным белком. Целью работы являлось сравнительное изучение морфологии штаммов грибов *G. lucidum*, *L. edodes*, *L. lepideus* и *L. tigrinus* и образования ими полисахаридов при глубинном культивировании.

Исследован рост новых штаммов грибов р. *Ganoderma* (4 штамма *G. lucidum*) и р. *Lentinus* (8 штаммов *L. edodes*, 1 — *L. lepideus* и 2 — *L. tigrinus*) на плотной сусло-агаровой среде 80 Б при температурах 15, 20, 25 и 30° С. Для получения глубинной биомассы грибы выращивали в колбах Эрленмейера на жидком пивном сусле 80 Б и глюкозо-пептонной среде. Мицелий отделяли фильтрованием через плотную ткань, эндополисахариды в мицелии определяли по, экзополисахариды — в культуральной жидкости по.

При поверхностном культивировании колонии штаммов *L. edodes* № 22, 23, 24, 27 и 28 имели паутинистый, сравнительно негустой воздушный мицелий. Штаммы *L. edodes* № 21, 25, 26, *L. lepideus* и *L. tigrinus* отличались более высоким, плотным, ватообразным воздушным мицелием. Все колонии белые, край ровный или слегка волнистый, прижатый. Центр колоний ровный или выпуклый, воздушный мицелий тяжистый. Окраска реверзума цвета среды, часто с темными включениями. Полное зарастание чашки Петри при 25° С большинством штаммов *L. edodes* наблюдалось к 14 сут, *L. lepideus* и *L. tigrinus* — к 5–7 сут. Линейная скорость роста (Кг) составляла у штаммов *L. edodes* — 1,9–4,3 мм/сут., у *L. lepideus* и *L. tigrinus* — 5,6–10,8 мм/сут.; ростовой коэффициент у штаммов *L. edodes* — 15,5–45, у *L. lepideus* — 60, *L. tigrinus* — 108. После 20 сут культивирования на мицелии многих штаммов начинала образовываться темно-коричневая пленка, после 30–40 сут начиналось образование примордиев. *L. lepideus* пигмента не образовывал.

Колонии грибов *G. lucidum* кожистые, с ярко выраженными концентрическими кругами, край колоний ровный, слегка приподнятый.

Мицелий плотный, сильно переплетенный, вначале белый, затем желто-золотистый до светло-коричневого. На реверзуме колоний наблюдается зональность с темными и светлыми зонами. Полное застарание чашки при 25°C всеми штаммами наблюдалось к 7–12 сут. Линейная скорость роста составляла 3,0–6,9 мм/сут, ростовой коэффициент 45,0–108.

Исследование роста грибов при различных температурах показало, что для всех штаммов р. *Lentinus* лучший рост наблюдался при температуре 25°C. Для штамма *G. lucidum* 15 оптимальной для роста оказалась температура 25°C, *G. lucidum* 17 и 18 – 30°C, *G. lucidum* 16 хорошо рос в диапазоне температур от 20 до 30° С.

На жидких питательных средах более высокой скоростью роста и накопления биомассы характеризовались грибы *G. lucidum*, *L. lepideus* и *L. tigrinus* (7–9 сут). Для роста всех штаммов *L. edodes* требовалось 12–14 сут. Отбор активных продуцентов полисахаридов среди грибов р. *Ganoderma* и р. *Lentinus* показал, что при выращивании на пивном сусле они накапливают 6,0–15,0 г/л биомассы, на глюкозо-пептонной среде – 3,5–11,2 г/л. Наибольший выход экзо- (4,0–8,0 г/л) и эндополисахаридов (8,0–15,2 %) отмечен при выращивании грибов на пивном сусле.

Изучено влияние состава питательной среды на рост отобранных штаммов грибов р. *Lentinus* и р. *Ganoderma* в глубинной культуре и образование ими полисахаридов. Высокий выход мицелия, образование эндо- и экзополисахаридов штаммами р. *Lentinus* наблюдались на среде с глюкозой (*L. edodes* – 7,2 г/л, 3% и 3 г/л, соответственно; *L. lepideus* – 10 г/л, 8,5 % и 1 г/л; *L. tigrinus* – 11,2 г/л, 6,6% и 2,8 г/л). Активный рост мицелия и синтез полисахаридов отмечен также на средах с лактозой, мальтозой и крахмалом. Лучшими для накопления биомассы отобранным штаммом *G. lucidum* оказались глюкоза (8,5 г/л), лактоза (8,0 г/л) и крахмал (8,4 г/л). Самый высокий синтез эндо- (7,0%) и экзополисахаридов (2,5 г/л) *G. lucidum* отмечен на среде с глюкозой.

Более высокий выход биомассы наблюдался при использовании органических источников азота, среди неорганических лучшим оказался сульфат аммония.

Повышение концентрации глюкозы до 30–40 г/л способствовало увеличению выхода биомассы грибов до 10,0–13,5 г/л и полисахаридов. При этом максимальное количество эндополисахаридов (9,0–9,2%) содержалось в биомассе *L. lepideus*, а самый высокий синтез экзополисахаридов (4,0–5,2 г/л) наблюдался у *L. edodes* и *G. lucidum*. Увеличение содержания глюкозы в среде с 30 до 40 г/л незначительно повышало биомассу и содержание эндополисахаридов. Дальнейшее повышение концентрации глюкозы приводило к некоторому снижению этих показателей. Независимо от содержания глюкозы в среде и природы источника азота наибольший выход эндополисахаридов получен при соотношении С:N, близком к 18, экзополисахаридов – к 25.

Для роста данных грибов требуется добавление в синтетическую питательную среду источника витаминов и ростовых веществ, например, кукурузного или дрожжевого экстракта. Добавление в среду поверхностно-активных веществ (подсолнечное масло, Tween) стимулировало рост гриба, увеличивало выход биомассы, экзополисахаридов и сокращало время культивирования, однако затрудняло процесс выделения и очистки полисахаридов.

Оптимизация состава полусинтетической глюкозо-пептонной питательной среды методом математического планирования эксперимента позволила повысить синтез биомассы на 30–40%, экзополисахаридов на 25–30% и эндополисахаридов на 15–20%.

ОБОГАЩЕНИЕ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ЦИНКОМ

Ровбель Н.М.

*Институт микробиологии НАН Беларуси
Минск*

В современной науке о питании важное место занимают вопросы обеспеченности организма человека микроэлементами. Одним из наиболее важных микроэлементов для нормального функционирования организма человека является цинк, который входит в состав множества ферментов. Суточная потребность – 15 мг.

Однако современный человек с ежедневным пищевым рационом не получает в полном объеме данный микроэлемент, что ставит вопрос о дополнительном обогащении продуктов питания цинком. С этой точки зрения достаточно успешными оказались биотехнологические методы «встраивания» микроэлементов в процессе культивации биомасс микроорганизмов (дрожжи, спирулина, лактобактерии), на основе которых уже получен ряд биологически активных добавок.

Цель работы – изучить закономерности роста и накопления цинка мицелием съедобных лекарственных грибов *Pleurotus ostreatus* и *Lentinus edodes* для получения грибной биомассы обогащенной цинком.

В работе использовались по 5 штаммов *P. ostreatus* и *L. edodes*. Культивирование осуществляли в чашках Петри. Непосредственно перед разливом в чашки в расплавленную среду стерильно вносили 1 М раствор ацета цинка до достижения 1мМ, 2мМ, 3мМ, 4мМ и 5мМ. Контролем служил мицелий, выращенный на среде, не содержащей цинк.

На первом этапе наших исследований было проведено сравнительное изучение влияния присутствия ионов цинка в питательной среде на ростовые характеристики грибного мицелия. Была отмечена значительная внутривидовая вариация среди штаммов *L. edodes* по чувствительности к ионам цинка в среде и по скорости роста мицелия. На-

ибо более быстро растущим штаммов в присутствии 2 мМ цинка оказался штамм 185, при увеличении концентрации металла до 3 мМ скорость роста было близка в контрольной группе. Для штамма 107 дополнительное внесения 1 и 2 мМ ионов цинка не оказывала влияния на рост мицелия, в то время как при 3 мМ скорость роста снижалась более, чем в 3 раза.

Для всех исследованных штаммов *P. ostreatus*12 присутствие в среде 3 мМ цинка приводило к повышению скорости роста по сравнению с контролем – от в 1,5 раза для штамма 336 до почти в 2,6 раза для штамма 12. Дальнейшее повышение концентрации цинка ингибировало активный рост мицелия, но контрольные и варианты с 4 мМ цинка различались не значительно. Скорость роста грибов на среде с 5 мМ была в 1,2–1,7 раза ниже, чем в контрольных вариантах.

Для исследования накопления цинка в мицелии был отобран штамм *P. ostreatus* 12, который отличался самым быстрым ростом на средах с цинком среди всех исследованных нами культур. Наиболее активно гриб рос в течение первых 5 сут. Именно в этот период происходит и наиболее активное накопление цинка в мицелии. При дальнейшем культивировании прирост мицелия происходит быстрее, чем аккумулируется цинк из питательной среды. Только в варианте опыта с 3 мМ цинком в среде мы наблюдаем наряду повышением выхода мицелия и дальнейшее увеличение содержания цинка в мицелии в последующие 5 сут. После 10 сут., когда мицелий, как в контроле, так и в опытных вариантах, кроме 5 мМ, достигает до края чашки Петри, не наблюдается значительного прироста мицелия на среде в течение последующих 5 сут.

На концентрациях стимулирующих рост гриба (1–3 мМ цинка) уже на 5 сут. наблюдается значительное уменьшение содержания цинка – не более 82%, а к 10 сут. его практически полное извлечение. При добавление в среду 4 мМ гриб *P. ostreatus*12 на 5 сут. культивирования аккумулирует 49% от изначально внесенного количества цинка, на 10 сут. – 61%, на 15 сут. – 72%. В варианте с 5 мМ исходного цинка степень извлечения еще ниже и в питательной среде остаются значительные количества металла, которые гриб не способен извлекать.

Таким образом, в результате проведенного исследования отобран штамм *P. ostreatus* 12 активно растущий на питательной среде с цинком, подобраны оптимальная концентрация металла и период культивирования, позволяющие не только получать грибной мицелий с высоким содержанием цинка, но остающаяся после выращивания гриба среда не является отходом, содержащим токсичные для окружающей среды остаточные количества цинка.

СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ СТРОНЦИЯ БИОМАССОЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ

Ровбель Н.М.¹, Гончарова И.А.¹, Гутько Н.И.²

1 – Институт микробиологии НАНБ,

*2 – Международный государственный экологический университет
им. А.Д. Сахарова Минск*

Проблема защиты организма человека от негативных последствий аварии на ЧАЭС, несмотря на принятые меры радиационной защиты, не теряет своей актуальности. Миллионы людей продолжают проживать на загрязненных территориях, регулярно употребляют пищевые продукты, содержащие радионуклиды, подвергаются постоянному воздействию малых доз внутреннего облучения. Весьма опасен радиоактивный изотоп стронция, который при попадании в состав костной ткани облучает костный мозг и нарушает кроветворные процессы.

В числе наиболее эффективных мер минимизации последствий накопления радионуклидов и тяжелых металлов признано регулярное потребление продуктов, содержащих так называемые «пищевые волокна», к которым обычно относят неперевариваемые в тонком кишечнике биополимеры различной химической природы, содержащиеся, в основном, в растениях: целлюлозу и ее производные, пектиновые вещества, лигнин, обладающие способностью связывать токсичные металлы и выводить их из организма. Однако, из-за сложной экологической обстановки, сложившейся во многих регионах республики, продукты растениеводства, богатые пищевыми волокнами, сами зачастую содержат поллютанты, опасные для здоровья.

Одним из путей решения данной проблемы может стать использование в лечебно-профилактическом питании продуктов, полученных из сырья, выращенного в искусственных условиях. Весьма перспективными в этом отношении являются высшие грибы, разрушающие древесину по типу белой гнили. Они отличаются уникальным комплексом биологически активных веществ, необходимых для усвоения такого сложного субстрата как лигнин, и используются в медицине стран Дальнего Востока уже не первое тысячелетие. Структурную основу грибной клеточной стенки составляет хитин-глюкановый комплекс, который практически не переваривается в организме млекопитающих, поэтому связанные с ним токсиканты выводятся с остатками пищи.

Проведено сорбционной способности по отношению к ионам стронция дереворазрушающих грибов известных своими лекарственными свойствами – *Trametes hirsuta* (кориол), *Pleurotus ostreatus* (вешенка), *Lentinus edodes* (шитаке), *Ganoderma lucidum* (рейши). Грибы выращивали на пивном сусле в колбах Эрленмейера на качалке (глубинное культивирование) и в чашках Петри (поверхностное культивирование). Основной неперевариваемый компонент грибной биомассы биополи-

мер хитин, образующий со щелоченерастворимым глюканом единый хитин-глюкановый комплекс, выделяли путем щелочного гидролиза клеточных стенок.

Так как химические свойства элементов не зависят от их изотопного состава в работе использовали стабильный изотоп стронция. Сорбционную емкость грибной биомассы по отношению к ионам стронция рассчитывали, исходя из количества металла, извлеченного сухой биомассой из 0,25 мМ раствора хлорида стронция после достижения системой состояния динамического равновесия. Концентрацию стронция в растворе до и после сорбции определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

Результаты исследования, представленные в таблице, показали, что среди изученных грибов наиболее высокой способностью связывать ионы стронция обладает мицелий гриба *G. lucidum*, полученный при выращивании на жидкой питательной среде в условиях аэрации. Глубинный мицелий *G. lucidum* отличается от других грибов наличием на поверхности мелкодисперстных гиф плотного слизистого слоя, основным компонентом которого является гликан. Тот факт, что после очистки хитин-глюканового комплекса гриба от других компонентов биомассы сорбционная емкость снизилась в 2 раза, свидетельствует о способности экзогликанов концентрировать стронций.

У других изученных грибов наиболее высокой сорбционной активностью по отношению к ионам стронция характеризовался мицелий, выращенный в поверхностной культуре и выделенный из него хитин-глюкановый комплекс. Воздушный мицелий *G. lucidum*, сходный по внешнему виду с воздушным мицелием других грибов, практически не отличался от них и по сорбционным свойствам.

Пеллеты глубинной культуры грибов *L. edodes*, *P. ostreatus* и *T. hirsuta* связывали ионы стронция значительно хуже по сравнению с поверхностным мицелием. Сорбционная емкость хитин-глюканового комплекса, выделенного из глубинной биомассы, была примерно в 1,5 раза ниже, чем у аналогичной структуры поверхностной культуры.

Сорбционная емкость по отношению к ионам стронция (мМ/г) мицелия и хитин-глюканового комплекса ксилотрофных базидиальных грибов

Культура	Глубинная культура		Поверхностная культура	
	Нативный мицелий	Хитин-глюкановый комплекс	Нативный мицелий	Хитин-глюкановый комплекс
<i>G. lucidum</i>	0,061	0,031	0,051	0,053
<i>L. edodes</i>	0,029	0,033	0,049	0,055
<i>P. ostreatus</i>	0,034	0,035	0,052	0,056
<i>T. hirsuta</i>	0,028	0,035	0,048	0,052

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что использование в диетическом питании хитин-глюканового комплекса, являющегося основным структурным компонентом клеточных стенок, которые остаются в качестве отхода после извлечения экстрактов грибов с лекарственными свойствами, способно защитить человека от негативных последствий хронического поступления в организм радиоактивного стронция.

ОПТИМИЗАЦИЯ СРЕДЫ ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИЦЕЛИЯ *FOMITOPSIS* *OFFICINALIS*

Сидоренко М.Л.

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН
Владивосток*

В настоящее время в отечественной и мировой науке наблюдается повышенный интерес к изучению грибов. Это связано, прежде всего, с кардинальным пересмотром значимости и уникальности экологических функций, контролируемых грибами в природных экосистемах. Во-вторых, грибы были и остаются одним из основных и перспективных объектов биотехнологии.

Многие грибы обладают не только ценными пищевыми, но и лечебными свойствами. В последние десятилетия грибами стали интересоваться как источником антибиотических и лекарственных средств. Новые пути в области эффективных антибактериальных лекарственных препаратов дали высшие базидиальные грибы.

Особое внимание привлекает ксилотрофный базидиомицет *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) *Bondartsev et Singer* (Бондарцева, 1998), известный как трутовик лекарственный или листовенничная губка. Он активно используется в народной и официальной медицине на протяжении нескольких тысячелетий. Отличается выраженной физиологической активностью, проявляет седативное, кровоостанавливающее действие, благотворно влияет на легкие и желудок (Кьюсьев, 2002), а также успешно используется против изнурительных потов у туберкулезных больных и в парфюмерной промышленности как антиперспирант.

В настоящее время естественные ресурсы этого вида истощены и как редкий исчезающий вид он внесен во многие региональные Красные книги. Это единственный вид трутовых грибов, который планируется внести в Красную книгу России.

В связи с этим возрастает необходимость в искусственном культивировании *F. officinalis*. Глубинное культивирование является одним из наиболее перспективных направлений, способствующих быстрому получению мицелия с определенными характеристиками.

В задачу настоящей работы входил подбор наиболее оптимальной питательной среды для глубинного культивирования листовничной губки, а также определение оптимальных физических условий, при которых накопление биомассы будет протекать наиболее активно.

В работе использовали штамм *Fomitopsis officinalis* из коллекции культур грибов лаборатории низших растений Биолого-почвенного института ДВО РАН. Культуру хранили при 4° С на сусло-агаре, пересевали 1 раз в месяц. Для получения глубинного мицелия листовничную губку выращивали в колбах Эрленмейера на 250 мл со 100 мл питательной среды на качалке. Температуру культивирования и скорость вращения качалки подбирали экспериментально. Для сравнения роста культуры на различных средах и в разных условиях в качестве инокулята использовали десяти суточную культуру *F. officinalis* выращенную на сусло-агаре. В опытные колбы вносили небольшие кусочки посевного материала.

В экспериментах использовали следующие среды, описанные Н.Л. Маттисон с сотрудниками (1965) и Е.А. Александровой с сотрудниками (1998), в некоторой модификации: пивное сусло 40 по Баллингу; глюкозная среда 1 на основе сусла и воды дистиллированной; глюкозная среда 2 на основе сусла и водопроводной воды; глюкозная среда 3 на основе воды дистиллированной без сусла; среда с крахмалом; мучная среда с сывороткой; кукурузно-соевая мучная; пшенично-мучная среда; глюкозо-пептонная среда.

Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием статистических функций Microsoft Excel 2000.

В результате исследований установлено, что на богатых натуральных средах, содержащих соевую, пшеничную или кукурузную муку, молочную сыворотку мицелиальный рост гриба очень слабый или не наблюдается вообще. В тоже время на синтетических средах с добавкой пивного сусла урожай биомассы достигает 7,1 г/л, что является своеобразным рекордом для листовничной губки. Поскольку, исходя из экспериментальных наблюдений, она относится к медленно растущим видам грибов.

Обращает на себя внимание тот факт, что при одинаковом составе сред добавка пивного сусла увеличивает выход биомассы мицелия. Интересно и то, что при культивировании на средах, содержащих пивное сусло, биомасса и культуральная жидкость приобретают запах фруктового компота с легким медовым оттенком.

Важнейшими факторами, регулирующими рост и метаболизм высших базидиомицетов в культуре, является температура, рН питательной среды, аэрация. Эти факторы влияют на растворимость солей, ионное состояние субстратов, морфологию клеток и их структуру, обуславливают физиологическую активность культур, в том числе влияют на свойства клеточных стенок, транспорт питательных веществ, мембранные реакции, скорость роста и метаболизм, а также способ-

ность усваивать те или иные источники питания (Горшина Е.С. и др., 2003; Бабицкая и др. 2005; Tang Y.J., Zhong J.J., 2003).

В связи с этим культура трутовика лекарственного выращивалась нами на исследуемых средах при температурах 6–10°C и 25–28°C. Данные проведенных экспериментов показали, что наибольший выход биомассы, при прочих равных условиях, обеспечивает температура 25–28°C. Тогда как при 6–10°C увеличения биомассы культуры не наблюдали.

Оптимальное значение рН для большинства видов грибов, исходя из литературных данных, лежит ниже 7, в пределах 5-6, хотя грибы способны развиваться при довольно значительной амплитуде кислотности. О.П. Низовская и Н.М. Милова (1964) относят листовничную губку к культурам с высокой оптимальной кислотностью. Однако, исследуемый штамм *F. officinalis* в процессе эксперимента показал активный рост при довольно широком спектре значений рН, от 3,7 до 7,6.

Следует отметить, что в процессе роста культура довольно значительно закисляла среду. Так при росте на пивном сусле значение рН падало с 6,50 до 3,71, а на среде с крахмалом – с 7,52 до 5,24. Это связано, по-видимому, с тем, что в процессе роста листовничная губка образует до 30–35% органических кислот (Ефименко, Агеенкова, 1964), которые и закисляют среду. Так, Н.А. Ефименко и Р.А. Агеенкова (1964) выделили из плодового тела *F. officinalis* щавелевую, лимонную, агаризиновую, и две тритерпеновые кислоты.

Аэрация в опытах с колбами не применялась.

Однако, не менее важным фактором, оказывающим влияние на физические процессы грибов, помимо уже перечисленных, является содержание сахара в среде. Так, при количестве сахара 1,0-2,80 по Баллингу роста культуры не наблюдали. Но, уже при 3,2 отмечали небольшое увеличение биомассы листовничной губки. Наиболее активно стимулирует рост мицелия содержание сахара 3,8–4,0 по Баллингу.

Так же одним из значительных факторов оказалась скорость вращения качалки. Нами установлена оптимальная скорость 200 об/мин.

Таким образом, отмечена коррелятивная зависимость между значением рН питательной среды, содержанием в ней сахара и выходом биомассы глубинной культуры: при нарастании биомассы в среде увеличивается количество сахара и снижается ее кислотность.

Подобрана наиболее оптимальная среда для глубинного культивирования трутовика лекарственного в лабораторных условиях: это глюкозная среда с добавкой суслу и приготовленная на водопроводной воде.

Определены оптимальные физические условия для культивирования глубинной культуры *F. officinalis* в колбах на качалке: температура 25–27°C, рН=5,5–5,8, содержание сахара 3,8–4,00 по Баллингу, скорость вращения качалки – 200 об/мин.

ШТАММЫ *LENTINUS EDODES*: МОРФОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НА ВЕГЕТАТИВНОЙ И ГЕНЕРАТИВНОЙ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ

Соболева Н.Ю., Белицкий И.В., Федорова Г.Б., Катруха Г.С.,
Краснопольская Л.М.

ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН
Москва

Разнообразное использование человеком макромицетов имеет давнюю историю. Базидиомицет *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (сиитаке или шиитаке) широко известен как культивируемый съедобный гриб с высокой питательной ценностью и тонким специфическим вкусом, а также как уникальный продуцент биологически активных веществ. Его метаболиты обладают иммуномодулирующими, противоопухолевыми, гиполипидемическими, гипогликемическими, противовирусными, антибактериальными и другими свойствами.

Общий объем научных публикаций, посвященных изучению *L. edodes*, достаточно велик. Подавляющее большинство работ освещает различные аспекты исследования биологической активности объекта. В то же время практически отсутствуют работы по изучению штаммового разнообразия *L. edodes*, включающие всесторонние, структурирующие исследования морфологических, физиологических и биохимических характеристик штаммов. Число исследованных штаммов *L. edodes* в отдельных работах обычно невелико, а их сравнительное изучение проведено по ограниченному набору признаков.

Настоящая работа является частью комплексного изучения 15 штаммов *L. edodes* и посвящена исследованию ряда их морфологических и физиологических свойств на вегетативной и генеративной стадиях развития.

Изученные штаммы *L. edodes* существенно различались по линейной скорости роста на четырех плотных средах. На основании полученных результатов они были разделены на четыре группы, в качестве критерия использовали значение диаметра 7-дневной колонии. Полное зарастание чашек Петри с использованными средами происходило на 8–12 сутки. Наименьшие различия линейной скорости роста штаммов были отмечены при использовании картофельно-глюкозного агара, а наибольшие – суслоагара. Показаны изменения линейной скорости штаммов в зависимости от состава сред. К числу культур, у которых эти изменения были наименьшими, относились самые медленно- и быстрорастущие штаммы.

Колонии изученных штаммов *L. edodes* различались по текстуре, наличию концентрических зон и радиальной исчерченности, интенсивности развития воздушного мицелия. Отмечены следующие типы

текстур колоний – ворсистая, войлочная, мучнистая, творожистая и вихревая. Большинство штаммов формировало колонии с вористой или войлочной текстурой. Один из штаммов образовывал колонию с ранее не описанной вихревой текстурой, характеризующейся дугообразным ростом мицелия по часовой стрелке. Не обнаружено ни одного штамма, который бы проявлял концентрическую зональность на всех изученных средах. Каждый из шести штаммов, способных к формированию колоний с радиальной исчерченностью, образовывал такую колонию только на одной из четырех изученных сред. Все изученные колонии обладали ровным, прижатым краем. Наличие секторов морфологически отличного роста отмечено не было.

У всех штаммов *L. edodes* воздушный мицелий был белого цвета. Изученные среды обеспечивали среднюю или высокую интенсивность развития воздушного мицелия штаммов *L. edodes*. Большинство штаммов входило в группу с высокой интенсивностью развития мицелия, образованию которого благоприятствовало выращивание на большинстве изученных сред. Образование характерной для *L. edodes* коричневой пленки на поверхности выросших колоний всех изученных штаммов происходило через 2–4 недели их инкубации при 2° С.

Для сравнительной оценки длительности процесса погруженного культивирования и накопления биомассы штаммов *L. edodes* был предложен экспресс-метод. Содержание мицелия каждого штамма в культуральной жидкости фиксировали по одному разу в течение трех последовательных суток процесса. Для разделения штаммов на группы по скорости роста вычисляли суточные изменения содержания биомассы с шестых на седьмые ($\Delta 6-7$) и с седьмых на восьмые ($\Delta 7-8$) сутки процесса. Учитывая общий характер накопления биомассы мицелиальных грибов в погруженной культуре, в группу быстрорастущих штаммов включали культуры с $\Delta 7-8 < 0$, накопление биомассы которых достигало максимума на 7-е сутки. Группу медленно растущих штаммов, продолжавших интенсивно накапливать биомассу к 8-ым суткам, составили штаммы с $\Delta 6-7 < \Delta 7-8$. Пять штаммов с $\Delta 6-7 > \Delta 7-8$ составили группу с промежуточными значениями скорости роста. Конечный рН фильтратов культуральной жидкости изученных штаммов на 7-е сутки составлял 3,25–3,45.

Для выявления штаммовых различий *L. edodes* на генеративной стадии в культуре были получены плодовые тела.

Наибольшие различия между плодовыми телами разных штаммов были отмечены по форме шляпки, по массе плодовых тел, по высоте ножки и, соответственно, по высоте плодового тела. Все штаммы были разделены на две группы по форме шляпки. Штаммы одной из них формировали конусообразные шляпки с влажной матовой поверхностью бурого или темно-бурого цвета преимущественно без чешуек. С возрастом шляпки постепенно распрямлялись, сохраняя конусообразный центр. Штаммы другой группы образовывали распростертые шляпки с сухой

поверхностью темно-бурой окраски и ярко выраженными чешуйками по краю. Толщина шляпок, замеряемая по центру, была больше у штаммов с конусообразной формой шляпок. Внутри групп штаммов с конусообразной и распростертой формами шляпок были выявлены как крупные, так и мелкие плодовые тела. Для всех штаммов *L. edodes* была характерна светло-бурая сплюснутая ножка, преимущественно центральная. Только два штамма изредка формировали эксцентрическую ножку. Более высокие ножки были характерны для штаммов с конусообразной формой шляпки. У этих штаммов, в целом, был ниже показатель соотношения массы шляпок к массе ножек. Морфометрия плодовых тел всех штаммов *L. edodes* показала, что достоверные различия наблюдались преимущественно между штаммами, обладающими самыми крупными и самыми мелкими плодовыми телами.

Ранее были выявлены штаммы *L. edodes*, проявляющие антибиотические свойства в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов. Проведенные исследования показали, что обязательным биологически активным метаболитом этих штаммов является лентиницин В, которому могут сопутствовать близкородственные соединения. Разработка микробиологического метода определения эритаденина позволила выявить штаммы *L. edodes*, образующие это вещество в условиях погруженной культуры. Число штаммов-продуцентов эритаденина составило менее трети от общего количества изученных культур. Выявлены существенные различия в количественном содержании водорастворимых полисахаридов мицелия штаммов *L. edodes*

БИОЛОГИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА БУКОВОГО ГРИБА *HYPsizYGUS MARMOREUS (PECK) BIGEL*

Соломко Э.Ф., Ломберг М.Л., Бухало А.С.
Институт ботаники имени Н.Г.Холодного НАН Украины
Киев

Съедобный лекарственный гриб *Hypsizygus marmoreus* (Peck) Bigel. из порядка Tricholomatales (Agaricomycetidae) известен под названием буковый гриб (the Beech mushroom), ильмовая вешенка (the Elm Oyster) или Bunashimeji в Японии. В природных условиях он встречается в широколиственных лесах Азии, Европы и Северной Америки, где растет как сапротроф или факультативный паразит преимущественно высоко на стволах вяза, дуба, бука, ивы и других твердых пород деревьев. Эта особенность нашла свое отражение в родовом названии гриба: «Hypsi» — в переводе с греческого означает «сверху», а «zygus» — коромысло. Ви-

довое название «*marmoreus*» — подчеркивает характерную окраску и пятнисто-мраморный рисунок на шляпке гриба.

Буковый гриб начали коммерчески культивировать в Японии сравнительно недавно (с 1973 года), но уже к 1990 году он вошел в десятку видов, объемы производства которых достигли промышленных масштабов (22,6 тыс. т), опередив по темпу дальнейшего роста производства в последующие годы (1994 — 55,8 тыс.т; 1997 — 74,2 тыс.т) такие традиционные для стран Юго-Восточной Азии виды, как *Pholiota nameko*, *Grifolia frondosa*, *Tremella* spp и др. Только в Китае за период с 1998 до 2000 года производство плодовых тел букового гриба возросло на 120,6%: с 38,0 до 83,8 тыс.т. Наряду с этим буковый гриб остается пока еще недостаточно изученным и новым для европейского грибоводства видом.

Учитывая наличие ряда спорных вопросов таксономии рода *Hypsizygus* нами проведены морфолого-культуральные, физиологические и, совместно с немецкими коллегами, молекулярно-биологические исследования нуклеотидных последовательностей ITS регионов рДНК штаммов *H. marmoreus*, поступивших в коллекцию шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ в 1998 году.

Полученные характеристики включены в банк данных EMBL (Вена, Австрия), представлены в интернете и опубликованы. К числу характерных особенностей микроморфологии следует отнести наличие на дикариотическом мицелии таких структур бесполого размножения, как хламидоспоры и артроконидии, наряду с присутствием пряжек анастомозов и кристаллов. Скорость роста исследованного нами мицелия букового гриба на различных натуральных, комплексных и синтетических агаризованных средах относительно невелика (2,5–4,2 мм/сутки), поэтому для получения инокулюма требуется 12–14 дней, а посевного мицелия на зерне пшеницы около 20 дней. С использованием подобранных нами условий получения жидкого инокулюма (состава и рН сред, температура инкубации, селекционированные штаммы) сроки получения посевного мицелия первой генерации могут быть сокращены до 14–15 суток. Культивирование букового гриба можно проводить только на стерильных субстратах: опилках с добавками, повышающими содержание азота, или на ряде подобранных нами субстратов из числа отходов растениеводства. При оптимальной температуре инкубации (25–27°C) и влажности субстрата (60–70%) период его обрастания длится до 30 дней и через 7–8 дней после снижения температуры до 10–12°C появляются примордии. Активному росту плодовых тел грибов способствует хорошая вентиляция и освещение, а также температура в диапазоне от 15 до 18°C.

Важными аргументами в пользу дальнейшей оптимизации технологии культивирования букового гриба и включения его в число новых перспективных объектов отечественного грибоводства является не только его бесспорные пищевые достоинства, близкие к белому грибу (*Boletus edulis*), но и убедительные данные, касающиеся его лекарственных свойств.

Японскими исследователями установлено, что потребление плодовых тел, экстрактов и полисахаридов этого гриба существенно тормозит развитие злокачественных опухолей и метастазов [Ikekawa 1992,1995,2001]. Превентивный эффект, в частности, показан в отношении развития метастазов карциномы Lewis Lung [Sation et al.,1997]. В сравнительных исследованиях на мышах с трансплантированными клетками Саркомы S-180 установлено, что при введении per os нативного экстракта *H.marmoreus* в концентрациях 100 и 500 мг/кг веса, их ингибирующая активность на рост опухоли была выше, чем у таких же количеств известного противоопухолевого лекарственного препарата Крестина (PSK), получаемого из *Trametes versicolor* [Sayama et al., 2003]. Более того, введенные внутривенно высокомолекулярные фракции экстракта плодовых тел букового гриба оказывали тормозящее действие на развитие опухоли уже начиная с концентрации 3 мг/кг веса.

С использованием химических, ферментатических, ЯМР и спектральных методов анализа были исследованы водные и щелочные экстракты из культивируемых плодовых тел букового гриба; изолированы и охарактеризованы отдельные фракции полисахаридов, изучен их состав и противоопухолевая активность в отношении Саркомы 180 у мышей [Motoi et al., 2003]. Способностью тормозить развитие опухоли обладали фракции, содержащие 1,3-β-глюканы, в то время, как очищенный 1,3-α-глюкан такой активностью не обладал. В ряде опубликованных работ отмечено также значительное антиоксидантное действие экстрактов букового гриба [Matsuzawa et al., 1997,1998].

Включение букового гриба в круг объектов отечественного грибоводства обогатит ассортимент грибных пищевых продуктов, имеющих профилактические и оздоравливающие свойства.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *DAEDALEA QUERCINA*, ПРОЯВЛЯЕМАЯ В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Тихонова О.В., Антонова В.Н., Толстых И.В., Ефременкова О.В.
ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН
Москва

В связи с широким распространением форм патогенных микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам, весьма актуальна задача поиска новых лекарственных соединений, преодолевающих лекарственную устойчивость. Одним из направлений поиска новых антибиотиков является исследование видов, ранее подробно не изучавшихся в качестве продуцентов лекарственных веществ. К таким видам относится базидиальный гриб *Daedalea quercina* (дубовая губка). Гриб был выделен в

чистую культуру тканевым методом из плодового тела, привезенного из Камбоджи (Сиануквиль); штамму присвоен номер 3732/ОЕ.

Изучение физиологических потребностей данного штамма показало, что гриб быстро набирает биомассу в условиях глубокого культивирования при постоянном аэрировании на средах с различными источниками углерода (мальтоза, глюкоза, сахароза, лактоза, крахмал, пшеничная мука, глицерин, этиловый спирт, пшеничные и овсяные отруби). Предпочтительными были среды с мальтозой, глюкозой, крахмалом и глицерином. При изучении динамики накопления биомассы на средах с различными источникам углерода и азота установлено, что ее максимальный выход наблюдается на соево-глюкозной среде и составляет на пятые сутки роста 28,5 г/л (по сухой биомассе). Способность штамма расти на средах различного состава при широком диапазоне рН (от 4,9 до 7,6) свидетельствует о мощной ферментативной системе.

Изучение образования данным штаммом антимикробных веществ проводили при культивировании на восьми средах. Антимикробную активность культуральной жидкости определяли на 5, 7, 14, 21 и 28 сутки роста штамма методом диффузии в агар. В качестве тест-организмов использовали 12 культур бактерий и грибов. Особое внимание было уделено следующим тест-объектам: *Staphylococcus aureus* FDA 209P (MSSA – чувствительный к метициллину и другим бета-лактамам антибиотикам штамм золотистого стафилококка), *S. aureus* INA 00761 (MRSA – устойчивый к метициллину и другим бета-лактамам антибиотикам штамм золотистого стафилококка), *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177 (штамм с высоким уровнем природной устойчивости к гликопептидным антибиотикам, МПК>512 мкг/мл), *Escherichia coli* ATCC 25922 (широко используемый в мире штамм для тестирования различных антибиотиков), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (штамм обладает множественной устойчивостью к широкому кругу антибиотиков).

Установлено, что в ранние сроки культивирования (на 5 сутки) на всех средах проявляется антимикробная активность в отношении *Aspergillus niger* INA 00760. В отношении других тест-организмов проявление антимикробной активности было различным и зависело как от среды, так и от времени культивирования. Антибиотическая активность в отношении грам-отрицательных бактерий максимально проявлялась на 7 (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853) и 14 (*E. coli* ATCC 25922) сутки, а наивысшая активность в отношении ряда грам-положительных бактерий, включая штамм MRSA, – на 5, 21 и 28 сутки. Анализ проявляемой антимикробной активности с учетом применяемой культуральной среды, сроков культивирования и антимикробного спектра показал, что штамм *D. quercina* 3732/ОЕ при глубинном культивировании на разных средах образует не менее 4-х веществ с наиболее выраженной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* (MRSA, MSSA), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Aspergillus niger*.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ РОСТА МИЦЕЛИЯ, СЪЕДОБНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА ОПЕНКА ЗИМНЕГО *FLAMMULINA VELUTIPS* (FR.) P. KARST

Шелюк А.И.

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины
Киев*

Зимний опенок является ценным продуцентом многих биологически активных веществ — полисахариды, протеин-глюкановые комплексы, стеролы лектины, фенольные вещества и др. (Song Airon, 1996; Tomita T., 1998; Yuichi Hirai, 1998).

В нашей работе было изучено влияние разных температур (5, 10, 15, 20, 25, 28, 31, 34°C) на показатели средней скорости радиального роста 23 штаммов из Национальной коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники им. М.Г. Холодного НАН Украины. Исследования проводили на картофельно-глюкозной агаровой среде. Для расчета средней скорости радиального роста (V_r , мм/сут) строили графики зависимости радиуса мицелиальной колонии от времени культивирования, а в фазе линейного роста культуры на основании семи параллельных измерений определяли среднюю скорость радиального роста. Полученные результаты измерений обрабатывали методом математической статистики.

Результаты опытов дали возможность выявить существование штаммовых различий в отношении значений температур, при которых наблюдается максимальная скорость роста мицелия. Следует отметить, что в диапазоне температур от 5–28°C рост был зафиксирован у всех исследованных штаммов. При температуре 31°C рост наблюдали в 73% штаммов а при 34°C в 30% хотя, с литературных источников известно, что при 34°C рост опенка зимнего прекращается (Chang, 1999).

Максимальная скорость роста была зафиксирована при температуре 28°C в 65% исследованных штаммов, в 17% при 20°C, в 10,% и при 31°C в 8%.

В зависимости от скорости радиальной роста все исследованные штаммы можно разделить на три группы: быстро растущие 6,3–7,5 мм/сут (61%), средне растущие 4,0–6,0 мм/сут (30%) и медленно растущие 2–3 мм/сут (10%).

Следует отметить также и то, что при температуре 34°C рост наблюдался в тех штаммах которые относятся к быстрорастущей группе.

За морфологией часть штаммов имели мучнистую консистенцию мицелия и относились к группе средне и медленно растущих. Штаммы с войлочной структурой колонии отнесены к быстрорастущей группе.

Пигментация колоний была характерной не для всех штаммов, ее наблюдали в группах с средними и низкими показателями радиального

роста. Пигментация мицелия появлялась на пятые сутки культивирования в диапазоне температур от 20°C до 31°C.

Полученные данные свидетельствуют о значительной физиологической изменчивости штаммов *F. velutipes*. Характеристика мицелиальных колоний штаммов опенка зимнего дает основание говорить о том, что культуры с мучнистым типом воздушного мицелия и пигментацией колонии относятся к медленно — или к средне растущим, а с войлочным типом и без пигментации — к быстро растущим.

Глава 10

ОРГАНИЗАЦИЯ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ И ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

МЕСТО КУРСА «ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ» В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ

*Курочкин С.А., Медведев А.Г.
Тверской государственный университет
Тверской институт экологии и права*

В профессиональной подготовке специалистов медицинских, биологических и других специальностей часто имеются пробелы, связанные с отсутствием представлений о роли грибов в биосфере и жизни человека. Зачастую, представления о грибах ограничиваются уровнем знаний съедобных и ядовитых шляпочных макромицетов. В то время как из 10 000 известных к настоящему времени видов базидиальных грибов более 200 видов обладают заметным терапевтическим действием.

Мы считаем, что в Учебные планы подготовки выпускников медицинских, фармацевтических, биологических и экологических специальностей необходимо ввести курс «Экологическая микология», который позволил бы восполнить недостающий пробел в подготовке специалистов.

Задачами курса, на наш взгляд, должны являться изучение функционального разнообразия грибов, особенностей их аутоэкологии, закономерностей взаимодействия с микроорганизмами, растениями, животными, изучение роли грибов в жизни человека и возможностей их использования для решения различных экологических проблем.

Дисциплина «Экологическая микология» ориентирована на студентов, владеющих основами общей биологии, экологии, знаниями в области биоразнообразия, экологической эпидемиологии, медицинской микологии. Программа данного курса, как нам представляется, должна включать следующие моменты:

Общая характеристика грибов. Особенности грибных организмов как объектов изучения. Роль грибов в биосфере. Морфология и анатомия грибов. Мицелиальные структуры: ризоморфы, апрессории, склероции, гаустории, столоны, ловчие гифы. Тип гифальной системы и экологическая валентность вида. Строение базидиом. Типы гименофора. Ткань и трама. Элементы гимения: базидии, цистиды, щетинки.

Физиология и биохимия грибов. Питание грибов. облигатные паразиты, факультативные сапротрофы, факультативные паразиты, облигатные сапротрофы. Симбиотрофы. Явление микоризы и ее роль в естественных экосистемах. Воздействие факторов окружающей среды на микоризообразовательную способность грибов. Химический состав грибов. Первичные и вторичные метаболиты грибов. Зависимость метаболизма грибов от факторов окружающей среды.

Систематика грибов. Основные группы грибов: микромицеты, сумчатые макромицеты, афиллофороидные базидиомицеты, гастероидные базидиомицеты, агарикоидные базидиомицеты.

Факторы внешней среды, определяющие рост и развитие грибов. Влияние температуры на прорастание спор, развитие грибницы и образование базидиом. Психрофилы, мезофилы, термофилы. Стено- и эвритермные формы. Холодовой стресс и его роль в стимуляции образования базидиом. Приспособления психрофилов к холодному стрессу. Влияние влажности. Влияние степени аэрации. Влияние света и других видов радиации. Грибы и радиация. Микобиота территорий, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Фунгициды и противогрибковые препараты.

Внутривидовые и межвидовые взаимоотношения грибов. Микоценозы. Трофические взаимодействия в сообществе. Деструкторы и их специализация по субстратам. Развитие сообщества от колонизации до климакса. Сукцессии. Взаимодействия грибов с представителями других групп живого мира: растениями, животными, микроорганизмами. Микофлора человека. Альго-бактериальные взаимодействия. Лихенизированные грибы.

Топическое разнообразие микобиоты Земного шара. Сообщества грибов и ландшафты. Геохимическая роль грибов. Редкие виды грибов. Факторы, лимитирующие численность грибов-макромицетов. Грибы, занесенные в региональные Красные Книги и Красную Книгу РФ. Охрана редких видов.

Грибы в системе биологического мониторинга. Реакция грибов на загрязнения окружающей среды. Аккумуляция грибами тяжелых металлов. Меланизация грибов в условиях неблагоприятной радиационной обстановки. Мониторинг состояния микобиоты подстилочных сапротрофов лесных экосистем с целью оценки радиационного загрязнения местности. Ксилотирофные макромицеты и их роль в системе мониторинга лесов. Соотношение экологических групп грибов как показатель антропогенной нагрузки на лесные сообщества.

Биоповреждения, вызываемые грибами. Грибные повреждения древесины и продуктов ее переработки. Фитопатологическая роль грибов.

Перспективы использование ферментных комплексов лигнинразрушающих грибов в целлюлозно-бумажной промышленности как альтернатива химическим методам делигнификации. Перспективы использования грибов как утилизаторов отходов производств.

Использование грибов в пищевой промышленности. Съедобные и ядовитые макромицеты. Выращивание грибов. Технологии культивирования вешенок, шампиньонов, шиитаке, зимнего опенка.

Медицинская микология. Микозы как экологически зависимые заболевания. Оппортунистические микозы и микогенная аллергия. Грибные токсины, микотоксикозы (афлатоксикоз, фузариотоксикозы, эрготизм) и отравления грибами. Популяционная динамика возбудителей микозов и микотоксикозов.

Грибы как продуценты лекарственных препаратов и биологически активных веществ. Антибиотики грибного происхождения. Использование грибов при лечении онкологических заболеваний.

Введение курса «Экологическая микология», на наш взгляд, позволило бы повысить уровень подготовки специалистов по биологическим, медицинским и другим смежным специальностям.

СИСТЕМА ДОВУЗОВСКОЙ ПОДГОТОВКИ КАК ВАЖНЫЙ ФАКТОР НЕПРЕРЫВНОСТИ ОБЩЕГО И ВУЗОВСКОГО МИКОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ. ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ДОВУЗОВСКОЙ СИСТЕМЫ ОБУЧЕНИЯ

Митюшкин В.В., Зачиняев Я.В.

*Крестыанский государственный университет имени Кирилла и
Мефодия*

Луга, Ленинградская область

*Санкт-Петербургский государственный университет сервиса и
экономики*

В системе многоуровневого профессионального образования и, в частности, высшего образования в настоящее время выделяют специальную довузовскую подготовку будущих студентов. Потребность вузов в организации подобного этапа вызвана определенными требованиями вуза к качеству подготовки и к определенным качествам личности абитуриента, связанными с духовностью, нравственностью, определенным уровнем образованности и т.п., обусловленными потребностями данной специальности. В качестве требований, кроме перечисленных выше, для абитуриентов предъявляются профессиональная заинтересованность, любовь к выбранной профессии.

К сожалению, в настоящее время не разработана комплексная диагностика личности, а нормативными документами относительно формирования контингента студентов определяются лишь требования к знаниям и умениям абитуриентов. Вследствие этого, многие вузы на разных этапах развития используют профориентационное собеседование по выявлению общей культуры и отношения к выбору будущей профессии.

Важным условием качественного усвоения и последующего творческого применения знаний данного курса при изучении других и профильных дисциплин становится хорошо усвоенная система опорных знаний, получаемых в средней школе.

Главными задачами довузовского этапа обучения микологии в РК (Региональном колледже г. Луги) мы считаем развитие сознательного, системного и действенного усвоения микологии (в рамках среднего профессионального образования), реализацию развивающих возможностей межпредметных связей и совершенствование управления про-

блемно-поисковой деятельностью учащихся на принципе профессиональной направленности.

На этапе моделирования и проектирования системы довузовского образования участие кафедры биотехнологии КГУ имени Кирилла и Мефодия (создана д.х.н., проф. Зачиняевым Я.В. в 2000 году) проявлялось в обсуждении учебных планов, содержательной части учебно-методических материалов. В т.н. ассоциативных школах были проведены семинары, совещания по установлению преемственных связей, регулированию нагрузки учащихся, а также по методике обучения микологии в группах по направлениям. В центре внимания стоял вопрос о передаче специальных групп медико-биологического профиля на обучение микологии, химии, биологии, русскому языку, математике целиком в систему довузовского обучения, о регулировании расписания. РК передал часть предметов в полное ведение КГУ.

Главная идея проекта заключена в создании новой подсистемы довузовского образования в большей степени отвечающей запросам вуза, ее широкое обсуждение, развитие, совершенствование с участием других заинтересованных кафедр вуза и ассоциативных с университетом школ. Проект явился основой деятельности педагогического коллектива и заинтересованных коллег. Он представлял собой целевую программу деятельности довузовского образования и отвечал следующим требованиям:

научная обоснованность проекта; целенаправленность проекта и целеустремленность исполнителей; системный подход и взаимосвязь всех форм довузовского обучения; учет всех факторов и возможностей при выполнении проекта; оптимальность, т.е. охват всех аспектов организационно-педагогического процесса с учетом условий для их реализации; реалистичность, т.е. постановка реальных задач; преемственность целей и средств их достижения; создание условий для полноценной реализации проекта; критериальность, т.е. наличие критериев для оценивания результатов работы.

В учебном процессе применяется комплекс методов, активизирующих учебно-познавательную деятельность учащихся. Ведущее место в этом комплексе мы отводим демонстрации опытов, их интерпретации, решению разного типа познавательных задач, в том числе с медицинским и экологическим содержанием, демонстраций различного наглядного материала, активному использованию единства теоретических и эмпирических методов в формировании фундаментальных понятий, законов, а также методам теоретического и модельного объяснения (особенно, явлений микромира). Большое внимание уделяется стимуляции мотивов учения. К таким приемам мы относим связь изучаемых явлений с жизнью, медицинской практикой, раскрытие значения микологии и ее отдельных вопросов для медико-биологического, ветеринарного и аграрного образования, включение исторического материала, регионального компонента, проблем межпредметного характера.

Важным методом является самостоятельная работа с литературой, приобретение навыков реферирования, работа с тестами, получение и переработка информации, что имеет существенное значение для обучения в вузе.

Характерной особенностью организации довузовского образования является систематичность разнообразного контроля (мониторинга). Он основан на регулярной обратной связи, на разнообразии проверки усвоения программного материала: экспресс-диагностика, тестовый контроль, устный опрос, самостоятельные письменные проверочные работы и контрольные срезы по более крупным блокам.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В МИКОЛОГИИ

Рыжко П.П., Рощенюк Л.В.

*Медицинская академия последипломного образования,
Областной клинический кожновенерологический диспансер
Харьков, Украина*

Исходя из современных подходов, уровень развития систем диагностики микотических заболеваний должен базироваться на применении не только новых медицинских методик, но и на активном использовании новых информационных технологий для решения задач установления причинно-следственных отношений между параметрами исследуемых процессов, позволяющих строить адекватные математические модели.

Применение методов социальной информатики и математической эпидемиологии позволяет решать задачи моделирования различных микотических заболеваний, определения наиболее значимых факторов с целью выработки эффективных решений по локализации, как самих заболеваний, так и устранению порождающих их причин, а также способствующих их развитию.

С точки зрения социальной информатики и математической эпидемиологии постановка задачи исследования заключается в математическом моделировании процессов распространения микотических заболеваний.

В последнее время в мире наблюдается повышенный интерес к моделям математической эпидемиологии в связи с необходимостью моделировать и прогнозировать распространение различных эпидемий, с целью повышения эффективности проводимого лечения и профилактики.

Многие слабо формализованные процессы в социальной сфере представляются в виде причинно-следственных отношений, которые можно выразить в виде графовых моделей взаимодействия. Наиболее

существенные процессы для рассматриваемой проблемы представляются вершинами графа. От вершины “u” к вершине “v” проводится дуга, если изменение “u” оказывает непосредственное существенное воздействие на “v”.

Граф называется знаковым ориентированным графом, если дуга имеет знак плюс, если воздействие является “усилением” (при прочих равных условиях увеличение “u” приводит к увеличению “v” и уменьшение “u” — к уменьшению “v”), и знак минус, — если воздействие вызывает “торможение” (при прочих равных условиях увеличение “u” приводит к уменьшению “v” и уменьшение “u” — к увеличению “v”).

Примером такого описания может служить граф для анализа проблемы заболеваемости любой грибковой патологии.

Часть вершин графа (характеристик исследуемой предметной области) служит для управления эпидемическим процессом. Задавая динамику изменения указанных вершин, с помощью знакового орграфа исследователь может моделировать изменения во всех остальных вершинах-состояниях.

Модели слабо формализованных процессов в виде знаковых ориентированных графов содержат в себе много упрощений. В частности, воздействия некоторых параметров на другие могут быть разной силы. Модель в виде знакового орграфа предполагает все воздействия одинаковыми по силе, поскольку веса на каждой дуге имеют равное (единичное) значение. Более обоснованно приписывать дугам (“u”, “v”) различные веса $w(“u”, “v”)$. В этом случае граф трансформируется во взвешенный орграф. Такой вес интерпретируется как относительная сила воздействия одной вершины на другую. Вес может быть как положительным, так и отрицательным, что определяет “тормозящие” и “усиливающие” воздействия.

Следующий тип моделей ориентированных графов образует так называемые функциональные знаковые орграфы. В этом случае каждой дуге графа приписывается функция $f(“u”, “v”)$ уровней переменных “u” и “v”, где функция f интерпретируется как сила воздействия “u” на “v”, если “u” и “v” принимают значения определенного уровня.

Использование же нечеткой логики в качестве модели сложной системы, а именно модели взаимосвязи характеристик в ориентированном графе позволит ввести в дуги отображения характеристик намного более сложные, чем простые знаковые, взвешенные или функциональные орграфы, то есть обобщенные теоретико-множественные отображения типа

$$R: U \rightarrow V.$$

При этом структура этих отображений может иметь вид продукционных правил вида

$$R: \text{ЕСЛИ } U = NB \text{ ТО } V = ZE,$$

где переменные “U” и “V” принимают значения из определенного множества лингвистических переменных (например, NB — negative big,

NS – negative small, ZE – zero, PS – positive small, PB – positive big). С помощью продукционной модели представляется возможным описывать не только дуги, связывающие переменные, а все входные дуги, влияющие на значение той или иной переменной.

С помощью продукционных правил можно описывать не только абсолютные изменения значений в вершинах графа, но и скорости исследуемых процессов. Тогда модель будет содержать два типа отображений – статические и динамические, каждый из которых можно задавать в виде продукционных отображений нечетких множеств.

Другим направлением учета неопределенности в моделировании сложных слабо формализованных процессов (СФП) является включение в четкую математическую модель неопределенных факторов.

Следующим направлением моделирования СФП в условиях неполной информации являлось использование интервального моделирования, когда на значения параметров вводятся допуски в виде интервалов числовой оси. Интервальное моделирование является достаточно удобным инструментом, позволяющим человеку выразить свое представление о возможных изменениях того или иного параметра исследуемой системы. Однако, относительно того, как внутри интервала распределяются предпочтения возможных значений, интервальная модель дать не может.

Особую значимость в эскалации микотической инфекции приобретают: интенсификация программ диагностики и терапии, а также состояний иммуносупрессии, обусловленные иными многочисленными причинами (длительное использование комбинированной антибактериальной терапии, нарушение естественного микробиоценоза при проведении диагностических и лечебных процедур с использованием инвазивных методов и др.).

Нами разработана математическая модель взаимосвязи характеристики микотической патологии и методов популяционной динамики для исследования эффектов профилактических вмешательств.

В задачи исследования входило:

- построение продукционных моделей с использованием нечетких множеств, отражающих причинно-следственные отношения между параметрами системы;
- разработка методики построения нечетких продукционных моделей по экспериментальным данным;
- разработка методики построения динамических моделей развития эпидемиологической обстановки в классе нечетких продукционных моделей;
- разработка метода прогнозирования динамики развития микологического заболевания;
- разработка методики оценки устойчивости и управляемости в условиях хаотического развития эпидемического процесса;

- применение предложенной модели и метода при решении задач распространения эпидемии в конкретной популяции и территории;
- разработка методических рекомендаций оценки эффективности лечения на основе применения моделей и методов социальной информатики и математической эпидемиологии.

Выводы:

Таким образом, разработка на основе методических рекомендаций математической модели взаимосвязи причинно-следственных факторов, влияющих на заболеваемость микотической патологией и методов популяционной динамики, направленных на сдерживание их распространения, позволяет прогнозировать эпидемическую ситуацию и разрабатывать профилактические мероприятия изучаемой патологии.

КАТАЛОГ КУЛЬТУР МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ И БАКТЕРИЙ ГНУ ВНИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Свиридова О.В., Оследкин Ю.С., Воробьев Н.И., Максимова Л.М.

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии
Санкт-Петербург—Пушкин*

ГНУ ВНИИСХМ располагает одной из старейших и крупных специализированных хранилищ непатогенных микроорганизмов России, организованных при создании института в 1930 году. В настоящее время коллекция сосредоточена в лаборатории типовых культур и состоит бактериальной и микологической частей. Коллекция имеет статус Всероссийского депозитария сельскохозяйственного назначения. В мицелиальной коллекции поддерживается 535 культур, относящихся к 65 родам и 145 видам. Наиболее многочисленны представители рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*. Имеются уникальные штаммы производственных и перспективных культур – продуцентов физиологически активных веществ – аминокислот, ферментов, а также биодеструкторов полиароматических углеводов.

Институт регулярно выпускает печатный каталог микроорганизмов, включая новые поступления. Каталог культур коллекции микроорганизмов ГНУ ВНИИСХМ дает пользователям обширную информацию о поддерживаемых штаммах. Научные названия культур, перечисленные в каталоге, указаны в соответствии с принятыми положениями номенклатуры для этих микроорганизмов. В частности, номенклатура мицелиальных грибов основана на Международном кодексе ботанической номенклатуры и общих фундаментальных работах по микологии. Пользователи каталога получают информации о названии рода и вида культуры, авторах, впервые получивших их и год публикации. сведения

о штамме позволяют проследить его историю, т.е. откуда получен, под каким номером или обозначением передавался, а также первичное название под которым получена культура. Важная составляющая каталога – информация об особях в составе штамма и условиях его поддержания, включающая сведения о составе питательной среды, температуре культивирования, а также методах хранения, используемых для данного штамма (под вазелиновым маслом, периодический пересев, криоконсервирование, лиофилизация и др.).

Коллекция зарегистрирована в банке данных мировых коллекций на сайте WFCC (THE WORLD FEDERATION FOR CULTURE COLLECTIONS), акроним коллекции – CIAM. Электронная версия каталога коллекции микроорганизмов ГНУ ВНИИСХМ представлена на сайте института <http://www.arriam.spb.ru>. Для текущего учета микроорганизмов в коллекции (регистрации, выдачи документов, поиска штаммов по различным запросам) создана компьютерная база данных “CollARRIAM”. Открытая структура базы данных позволяет вводить новые штаммы и дополнять информацию к ранее введенным микроорганизмам.

ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ВОЛГОГРАДСКОГО НАУЧНО- ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА ПО ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МИКОЛОГИИ

*Тарасова Т.Д., Лесовой В.С., Новицкая И.В., Липницкий А.В.,
Прохватилова Е.В.*

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

В настоящее время перечень потенциальных возбудителей микозов включает в себя около 400 видов и он постоянно увеличивается за счет новых видов грибов, вызывающих инфекционные болезни у человека. Возросла роль микозов как причины внутрибольничных инфекций и заболеваний лиц с иммунодефицитами. Некоторые микозы (кандидоз, криптококкоз) относят к СПИД-ассоциированным инфекциям.

ФГУЗ ВолгоградНИПЧИ имеет большой опыт работы по дополнительному профессиональному образованию. Отдел подготовки специалистов в течение 6 лет является учебной базой для обучения врачей, фельдшеров и лаборантов на курсах специализации по специфической индикации и ускоренной лабораторной диагностики возбудителей особо опасных инфекций, в том числе глубоких микозов (кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза, бластомикоза, паракокцидиоидомикоза) и повышения

квалификации медицинских работников с высшим и средним медицинским образованием по бактериологии и клинической микробиологии.

На основании государственной лицензии (№414 от 12 мая 2004 г.), выданной Комитетом по образованию Администрации Волгоградской области, институт осуществляет профессиональную подготовку в рамках 12 программ для различных образовательных циклов, утвержденных Минздравсоцразвития РФ.

ФГУЗ ВолгоградНИПЧИ Роспотребнадзора является Федеральным центром по индикации и лабораторной диагностике возбудителей глубоких микозов и обладает единственной в России коллекцией этих грибов. Разработанная в институте в соответствии с приказами №115 и №116 Минздрава РФ новая программа повышения квалификации врачей и лаборантов по специальности «Лабораторная микология», утверждена руководителем Роспотребнадзора Г.Г. Онищенко 21 апреля 2005 г. Программа рассчитана на очное обучение (144 учебных часа) в течение 26 рабочих дней и предусматривает лекции, практические и семинарные занятия. Она включает в себя следующие разделы;

1. Общая медицинская микология. Сведения о роли грибов в инфекционной патологии человека. Сведения о морфобиологических, биохимических свойствах грибов.

2. Патогенез, клиника и лечение грибковых заболеваний.

3. Эпидемиология и экология микозов. Источники инфекции, пути передачи, факторы риска, наиболее поражаемые контингенты населения.

4. Режим работы с возбудителями микотических инфекций.

5. Основные морфо-биологические свойства возбудителей особо опасных глубоких микозов: кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза, бластомикоза, паракокцидиоидомикоза.

6. Дрожжеподобные грибы как возбудители микозов у человека.

7. Мицелиальные оппортунистические грибы как возбудители микозов.

8. Псевдомикозы: актиномикоз, нокардиоз, актиномицетомы и эумицетомы.

9. Основные методы лабораторной диагностики микозов вызываемых дрожжеподобными, оппортунистическими мицелиальными и особо опасными грибами.

10. Методы индикации возбудителей особо опасных микотических инфекций в окружающей среде и организме больных.

11. Микотоксикозы. Внутрибольничные инфекции, вызываемые микроскопическими грибами.

12. Санитарно-гигиенические и дезинфекционные мероприятия по предупреждению микозов.

13. Основные нормативные документы, руководства, пособия, методические указания и рекомендации по проблемам микозов.

14. Решение курсантами задач по специфической индикации возбудителей глубоких микозов.

15. Экзамен по пройденному курсу обучения.

По окончании курсов и успешной сдачи экзаменов выдаются следующие документы государственного образца: свидетельство о повышении квалификации и сертификат специалиста по специальности 040129 (040309) «Лабораторная микология».

ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ КАФЕДРЫ ПО ПРОБЛЕМАМ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Федотов В.П.

*Днепропетровская государственная медицинская академия
Украина*

По проблеме малассезиоза получены новые данные по эпидемиологии и диагностике; описаны клинические формы малассезиоза кожи, их комбинации, атипичные формы; разработана их классификация. Выявлены нарушения обменных процессов, эндокринного и иммунного статусов, что с учетом клинических проявлений позволило при сопоставительном анализе распределить больных в клинико-терапевтические группы. В соответствии с этим разработаны показания и методики комплексной терапии больных. При изучении проблемы кандидоза расширены наши представления о патогенезе инфекции, роль при этом макроорганизма, особенно – состояния иммунного статуса. Разработаны критерии диагностики кандидоза, а также методы адекватной комплексной дифференцированной терапии с использованием в качестве этиотропного препарата Пимафуцина. Нами впервые разработаны местные средства (свечи и палочки) с использованием дитиокарбаминовой кислоты и 8-оксихинолина; впервые внедрен новый препарат - мебетизол. Нами получены оригинальные данные о причинах рецидивов как в отношении микроорганизмов, так и макроорганизма; предложены адекватные методы профилактики. По проблеме микроспороза получены новые данные об эпидемиологии, состоянии иммунного статуса у больных, функции желудочно-кишечного тракта, что позволило разработать эффективные этиологические и патогенетические методы терапии больных. Внедрены оригинальные наружные средства в лечении микоза; впервые экспериментально доказана эффективность мебетизола при приеме внутрь. По проблеме дерматомикозов уточнены аспекты клинических проявлений, диагностики. Особое место занимали исследования патогенеза микозов, особенно у лиц, работающих в металлургической промышленности; выясняющие роль грибов в развитии дерматозов; по вопросам формирования микогенной аллергии. Впервые было доказано развитие вторичного иммунодефи-

цита у больных микозами, роль и место плесневых грибов в развитии онихомикозов. Впервые разработаны и внедрены новые препараты и лекарственные формы в наружной терапии дерматомикозов. Обращают на себя внимание работы по изучению особенностей микозов стоп и онихомикозов у пациентов, подвергнувшихся радиоактивному облучению, и у лиц, старше 60 лет, с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой и нервно-психической сферой. Все эти исследования позволили разработать методы терапии микозов с использованием как фунгицидных препаратов (Экзифин), так и патогенетических средств, наружного лечения. В последние годы разрабатывается роль грибковой инфекции в возникновении и течении дерматозов (псориаз, красный плоский лишай, розацеа и др).

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абрамян Дж.Г. 34
Авакян А.Д. 214
Авдеенко Ю.Л. 17
Автономова А.В. 217, 225
Азизов И.С. 167
Аксеновская В.Е. 279
Аксенов И.В. 124
Антоненко Л.А. 270
Антонова В.Н. 311
Антонов В.А. 166
Антропова А.Б. 36
Ариповский А.В. 249
Артюхин В.И. 241
Асланиди К.Б. 10
Афоница В.С. 22
Ахунова А.М. 68
Ахунов В.М. 68

Б

Бабаянц О.В. 92
Бабицкая В.Г. 178, 185, 220, 222,
236, 238, 252, 263, 268
Баканов А.В. 225
Барабанов А.Л. 69
Баргум Б. 129
Барышникова Н.В. 132
Бекмаханова Н.Е. 128, 260
Беленичев И.Ф. 151
Белицкий И.В. 217, 225, 307
Белова Н.В. 295
Белозерская Т.А. 10
Бибилова М.В. 232
Билай В.Т. 180
Биланенко Е.Н. 36
Бисько Н.А. 180, 263, 268, 270
Бицоева З.В. 72
Блинкова Л.П. 133, 137, 145, 285
Бобров В.И. 188
Богомолова Е.В. 38
Богомолова Т.С. 163, 174
Бойко М.И. 228
Бойко С.М. 230
Борисова Н.А. 232
Борисов Б.А. 272

Босак И.А. 163
Бредихина Н.А. 190
Буркин А.А. 94, 95, 97
Бурмистрова А.Л. 25, 29
Бухало А.С. 246, 290, 309
Бухман В.М. 217, 225
Буякова И.В. 195
Быстрова Е.В. 241

В

Васильева Е.А. 148
Васильева Н.В. 163
Васильев О.Д. 40
Веселов В.Я. 152
Вовк А.Д. 183
Войчук С.И. 164
Володина Л.И. 272
Волчатова И.В. 234
Вольская О.Г. 138
Воробьев Н.И. 323
Воронина Е.К. 144
Воронин С.П. 259
Врынчану Н.А. 143, 151
Выборнова И.В. 163, 174

Г

Гаврилов О.К. 200
Галимжанова Р.Р. 6
Галаяудинова Г.Г. 98
Ганнибал Ф.Б. 7
Гвоздкова Т.С. 178, 185
Гильмутдинов Р.Я. 104
Гладских Л.В. 121
Глушов В.В. 272
Глушко Н.И. 13
Гончарова И.А. 140, 302
Горбунова И.А. 22
Горобец О.Б. 133, 137
Горовой Л.Ф. 183, 201, 204, 255, 276
Горшина Е.С. 206
Григораш А.И. 188, 190
Григорьев А.М. 41
Гриневич Л.Н. 198
Гришина М.А. 11, 166
Громозова Е.Н. 9, 164

Гудкова Ю.И. 83
Гуменюк А.П. 259
Гуськова Т.А. 156
Гутько Н.И. 302

Д

Дедюшко Н.А. 198
Деньсюк Н.Н. 143, 151
Дешева Е.А. 42
Дзыгун Л.П. 246
Дигтярь А.В. 144
Дорофеева Е.С. 137, 145
Дубчак В.Е. 201

Е

Евдокимова О.А. 279
Евсенко М.С. 217
Егоров В.И. 98
Ершова Е.Ю. 280
Ефременкова О.В. 280, 311

Ж

Жданова Н.Н. 10, 44, 46
Желтикова Т.М. 36, 71
Жилин О.В. 48
Жирков В.М. 272

З

Заболотная Д.Д. 138
Задорожная Л.В. 183
Зайкина М.Ю. 190, 195
Зайцева Г.А.1 73
Зарицкая И.С. 138, 146
Зароченцева И.А. 38
Захарова Е.А. 167
Захарова Л.П. 124
Захарченко В.А. 44
Зачиняев Я.В. 101, 318

И

Ибадова Г.А. 169
Иванова А.Е. 10
Иванов А.А. 280
Иванов А.В. 104, 106
Иванов Д.М. 283
Иванушкина Н.Е. 14, 45
Иванченко О.Б. 109

Иконникова Н.В. 236, 238, 263
Исакова Е.Б. 217, 225
Исангалин Ф.Ш. 241
Исмагилов А.И. 77

К

Калягина С.Ю. 285
Камзолкина О.В. 280
Капич А.Н. 236, 243, 262
Караулов А.В. 72
Карпенко Ю.В. 10, 46
Карпук В.В. 245
Катлинский А.В. 232
Катруха Г.С. 280, 307
Кахаберидзе В.В. 149
Кизленко О.И. 114
Клечак И.Р. 246
Климко Н.Н. 174
Клясова Г.А. 170, 172
Кляуз Н.В. 183
Кобзистая О.П. 113
Кобякова В.И. 38
Ковалев В.А. 183
Коваленко Ю.Б. 173
Коваль Э.З. 54, 152
Колб З.К. 83, 174
Кондратюк Т.А. 44
Кононенко Г.П. 94, 95, 97
Коробова Н.А. 241
Короткий Ю.В. 143
Косарева Н.И. 241
Котрехова Л.П. 83
Кочкина Г.А. 14, 45
Кошкин С.В. 73
Крапивина Е.А. 286
Краснопольская Л.М. 217, 225, 307
Крипицер О.А. 19
Круподерова Т.А. 288
Кручинский Н.Г. 200
Кузьмин С.Г. 153
Куимова Н.Г. 48
Куляева В.В. 280
Курочкин С.А. 316
Курченко В.П. 255
Кутырева М.П. 6

Л

- Лазаренко Л.Л. 75
Лазуткина Е.Л. 75, 88
Ландышев Ю.С. 88
Левитин М.М. 7
Леднев Г.Р. 272
Ленова Л.И. 152
Леонтьева М.И. 225
Лесовой В.С. 11, 166, 324
Линовицкая В.М. 246
Липницкий А.В. 11, 166, 324
Лисовская С.А. 13
Литвинова Е.В. 198
Лихачев А.Н. 50
Лиховидов В.Е. 241, 249, 272
Ломберг М.Л. 309
Лощинина Е.А. 293
Лузгина Н.Г. 75
Львова Л.С. 114

М

- Мавлянова Н.Н. 77
Мавлянова Ш.З. 75, 77
Мазунина М.Н. 128, 260
Макланов А.И. 188
Максимова Л.М. 323
Максимова Р.А. 200
Максимов Ю.Н. 143, 151
Малиновская Л.С. 94, 95
Мартынова Е.А. 109, 117
Масчан А.А. 170
Машенцева Н.Г. 145
Медведева С.А. 234
Медведев А.Г. 316
Мелехина Ю.Э. 174
Мефед К.М. 148
Митковская Т.И. 54
Митропольская Н.Ю. 180
Митюшкин В.В. 318
Михайлова М.А. 163
Михайлова О.Б. 290
Мицкевич А.Г. 140
Мокеева В.Л. 36
Музыченко Л.М. 75
Мусселиус С.Г. 121
Мысякина И.С. 23

Н

- Наконечная Л.Т. 44
Нанаголян С.Г. 34
Наумова Е.С. 21
Наумов А.Н. 249
Наумов Г.И. 219
Негримовский В.М. 153
Немченко Н.Н. 183
Неумывакин Л.В. 210
Никитина В.Е. 293
Нилова Л.Ю. 132
Новикова Н.Д. 42
Новиков Д.К. 79
Новицкая И.В. 324
Норбоев Н.М. 169

О

- Оганесян Е.Х. 34
Озерская С.М. 14, 45
Окунев О.Н. 188
Оришак Е.А. 132
Осадчая О.В. 220, 222
Осипова И.Г. 148
Осипян Л.Л. 56
Оследкин. Ю.С. 323
Острокостова Н.В. 195

П

- Павличенко А.К. 46
Панина Л.К. 38
Пархоменко Н.И. 152
Первак В.Э. 38
Перунова Н.Б. 16
Петрова-Никитина А.Д. 36
Петрова Н.В. 149
Петров П.Т. 198
Пирязева Е.А. 94, 95
Пичугина Л.В. 109
Пленина Л.В. 200
Погорельская Л.В. 190
Погребникова И.Л. 38
Поддубко С.В. 42
Подорольская Л.В. 210
Поединок Н.Л. 220
Полищук Т.В. 270
Полухина О.Э. 83
Польских С.В. 279

Поспелова А.В. 25, 29
Прилуцкая А.Б. 201
Прилуцкий А.И. 201
Прохватилова Е.В. 324
Псурцева Н.В. 295
Птицин С.А. 170, 172
Пузанова Л.А. 58
Пузанова О.П. 109
Пучкова Л.И. 22
Пучкова Т.А. 252, 268, 297
Пушкина Т.В. 156
Пячюлите Д. 59

Р

Разикова Э.С. 77
Расторгуева Е.С. 151
Робота Л.П. 152
Ровбель Н.М. 140, 300, 302
Рожкова З.А. 220, 222
Рощенко Л.В. 320
Руденко А.В. 152
Русанов В.А. 125
Рыжко П.П. 320

С

Савельева О.А. 152
Савельев Ю.В. 152
Самойленко В.А. 188
Самышкина Н.Е. 25, 29
Светашов О.М. 173
Светлов Д.А. 40
Свиридова О.В. 323
Седакова Л.А. 217
Седова И.Б. 114, 124
Семенов Э.И. 106
Сенюк О.Ф. 183, 204, 255
Сенюк Х.В. 204
Сергеев Ю.В. 79
Сергиенко С.С. 101
Серебрякова Т.Н. 200, 210
Сеселкина Т.Н. 195
Сидоренко М.Л. 304
Синицкая И.А. 17, 18
Скворцова М.М. 206
Скрипко А.Д. 198
Смирнов Д.А. 236, 252, 268, 297
Соболева Н.Ю. 307

Соболев А.В. 83
Солдатенко Н.А. 125
Соломко Э.Ф. 270, 309
Соляник И.В. 183
Спиридонова И.А. 232
Степанова А.А. 17, 18
Страховская М.Г. 153
Суббота А.Г. 44
Суворов А.Н. 132
Суколин Г.И. 19
Суханова Ю.А. 63
Сухотина Н.Н. 21
Сушинская Н.В. 255

Т

Тарасова Т.Д. 324
Теплякова Т.В. 22
Терешина В.М. 188
Тертичная М.В. 104
Титова Н.Д. 79, 84
Тихонова О.В. 280, 311
Тихонов В.П. 217
Ткаченко Г.А. 166
Толстых И.В. 311
Тремасов М.Я. 98, 104, 106, 149
Трещалина Е.М. 217
Трифонов А.В. 190
Трухоновец В.В. 220, 222

У

Усов А.И. 217, 225

Ф

Федорова Г.Б. 307
Федоров Ю.Н. 259
Федотов В.П. 173, 326
Феофилова Е.П. 155, 188
Фетисов Л.Н. 125
Филимонова Т.В. 220, 222
Филиппова Ю.О. 230
Фролова Н.А. 87
Фунтикова Н.С. 23

Х

Халдеева Е.В. 13
Ханис А.Ю. 259
Харкевич Е.С. 44

Хомич Ю.С. 25, 29
Хромов И.С. 210

Ц

Цивилева О.М. 293
Цыганенко Е.С. 127
Цыманович С.Г. 200
Цырендоржиев Д.Д. 75

Ч

Чапленко Т.Н. 88
Чекунова Л.Н. 36
Чернов Ю.И. 25
Черноок Т.В. 185, 222
Чилина Г.А. 163

Ш

Шамбилова Н.А. 167
Шаркова Т.С. 210
Шахазизян И.В. 34
Шевелева С.А. 41
Шевчук Е.Ю. 180
Шевяков М.А. 174
Шелюк А.И. 313
Шемшура О.Н. 128, 260
Шилкина Н.М. 195
Шилова И.Б. 156
Шинкаренко Л.Н. 138
Шишкина Л.Н. 262
Шкурупий В.А. 75
Шумарина А.О. 153
Шурпицкая О.А. 83
Шхагапсоев С.Х. 286

Щ

Щербя В.В. 178, 220, 236, 238, 252,
263, 268

Э

Эбрагим О. 129
Элоян И.М. 34

Ю

Юрков А.П. 64
Юсеф О. 129

Я

Якуба Г.В. 65
Январева Н.И. 128

В

Wlachnio S. 160, 159

Д

Dąbkowska M. 160, 161

Ж

Jaworska-Zaremba M. 160, 161

Ł

Łuczak M. 160, 161

М

Mierzwińska-Nastalska E. 160

Н

Netsvyetayeva I. 161

С

Stelmach E. 161
Swoboda-Kopeć E. 160, 161

СОДЕРЖАНИЕ

Глава 1

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПАТОГЕННЫХ,
ТОКСИГЕННЫХ И АЛЛЕРГЕННЫХ ГРИБОВ

СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЦИНКА И МАРГАНЦА, КАК МОДУЛЯТОРЫ ПАТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБКОВОГО АЛЛЕРГЕНА <i>Candida albicans</i> <i>Галимзанова Р.Р., Кутырева М.П.</i>	6
ВИДОВОЕ И ВНУТРИВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ РОДА <i>Alternaria</i> <i>Ганнибал Ф.Б., Левитин М.М.</i>	7
ФОРМА МИЦЕЛИЯ В ГЛУБИННЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КАК РЕЗУЛЬТАТ АДАПТАЦИОННОГО ВЫБОРА САМООРГАНИЗУЮЩЕЙСЯ СИСТЕМЫ <i>Громозова Е.Н.</i>	9
ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ИЗ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС <i>Иванова А.Е., Асланиди К.Б., Карпенко Ю.В., Белозерская Т.А., Жданова Н.Н.</i>	10
О ПОЛИМОРФИЗМЕ КУЛЬТУР ГРИБОВ РОДА <i>COCCIDIOIDES</i> <i>Лесовой В.С., Гришина М.А., Липницкий А.В.</i>	11
АДГЕЗИВНЫЕ И АТИГЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ <i>Candida albicans</i> ПРИ ПОВЕРХНОСТНЫХ КАНДИДОЗАХ <i>Лисовская С.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И.</i>	13
ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ В КОЛЛЕКЦИЯХ КУЛЬТУР <i>Озерская С.М., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е.</i>	14
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ <i>Candida albicans</i> <i>Перунова Н.Б.</i>	16
СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОРОВОГО АППАРАТА СЕПТ КЛЕТОК <i>Aspergillus flavus</i> LINK <i>Степанова А.А., Сеницкая И.А., Авдеенко Ю.Л.</i>	17
СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОК ВЕГЕТАТИВНОГО МИЦЕЛИЯ <i>Aspergillus flavus</i> LINK <i>Степанова А.А., Сеницкая И.А.</i>	18
ИСТОРИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ОСНОВНЫХ ВИДОВ ГРИБА РОДА <i>Candida</i> <i>Суколин Г.И., Крипичер О.А.</i>	19
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МОЛОЧНЫХ ДРОЖЖЕЙ <i>KLUYVEROMYCES MARXIANUS</i> <i>Сухотина Н.Н., Наумова Е.С., Наумов Г.И.</i>	21
НУКЛЕАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ХИЩНЫХ И ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ <i>Теплякова Т.В., Пучкова Л.И., Афонина В.С., Горбунова И.А.</i>	22

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ЛИПИДОВ НА ХАРАКТЕР РОСТА ДИМОРФНОГО ГРИБА <i>Mucor lusitanicus</i> 12M <i>Фунтикова Н.С., Мысякина И.С.</i>	23
ОЦЕНКА ХАРАКТЕРА ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГРИБОВ РОДА <i>Candida</i> И НЕКОТОРЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПОВЕРХНОСТИ ПЛОТНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ <i>Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Поспелова А.В., Чернов Ю.И.</i>	25
ИЗМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ <i>Candida albicans</i> В УСЛОВИЯХ СО-КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Поспелова А.В.</i>	27

Глава 2 МИКОЭКОЛОГИЯ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА. ГРИБЫ В АНТРОПОЦЕНОЗАХИ НООСФЕРЕ

МИКОДЕСТРУКТОРЫ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА – УГРОЗА ЗДОРОВЬЮ ЧЕЛОВЕКА <i>Абрамян Дж.Г., Нанаголян С.Г., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Оганесян Е.Х.</i>	34
ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ МИКРОМИЦЕТОВ И КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ СЕМ. <i>Pyroglyphidae</i> В ЛАБОРАТОРНЫХ КУЛЬТУРАХ <i>Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Чекунова Л.Н., Биланенко Е.Н., Желтикова Т.М., Петрова-Никитина А.Д.</i>	36
РОЛЬ СЕЗОННЫХ КОЛЕБАНИЙ ВЛАЖНОСТИ В МУЗЕЙНЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ СТАРИННЫХ ЗДАНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА В ВОЗНИКНОВЕНИИ ГРИБНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭКСПОНАТОВ <i>Богомолова Е.В., Зароченцева И.А., Кобякова В.И., Панина Л.К., Первак В.Э., Погребникова И.Л.</i>	38
ПЛЕСНЕВЫЕ ГРИБЫ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА <i>Васильев О.Д., Светлов Д.А.</i>	40
ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕННОСТИ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК (БАД) К ПИЩЕ НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ <i>Григорьев А.М., Шевелева С.А.</i>	41
ХАРАКТЕР ФОРМИРОВАНИЯ ГРИБНОГО КОМПОНЕНТА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ <i>Дешева Е.А., Новикова Н.Д., Поддубко С.В.</i>	42
МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В ПОМЕЩЕНИЯХ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ ГОРОДА КИЕВА <i>Жданова Н.Н., Суббота А.Г., Кондратюк Т.А., Захарченко В.А., Харкевич Е.С., Наконечная Л.Т.</i>	44
УСЛОВНОПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ НА ВОСКОВЫХ ФОНОГРАФИЧЕСКИХ ВАЛИКАХ <i>Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Озерская С.М.</i>	45

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ 4-ГО БЛОКА ЧАЭС <i>Карпенко Ю.В., Павличенко А.К., Жданова Н.Н.</i>	46
МИКРОМИЦЕТЫ В ЭКОСИСТЕМАХ, НАРУШЕННЫХ ЗОЛОТОДОБЫЧЕЙ <i>Куимова Н.Г., Жилин О.В.</i>	48
ВЛАЖНОСТЬ ТЕХНОГЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩАЯ РАЗВИТИЕ ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ И ИХ АССОЦИАЦИЙ <i>Лихачев А.Н.</i>	50
РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ВОЗДУХЕ МУЗЕЙНЫХ ФОНДОХРАНИЛИЩ <i>Митковская Т.И., Коваль Э.З.</i>	54
ЛОЖНАЯ И НАСТОЯЩАЯ МУЧНИСТАЯ РОСА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АРМЕНИИ <i>Осипян Л.Л.</i>	56
РОЛЬ ГИПЕРПАРАЗИТНЫХ ГРИБОВ РОДА <i>AMPELOMUCES</i> <i>SES. EX SHLESCHT.</i> В ОГРАНИЧЕНИИ МУЧНИСТОРОСЯНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ <i>Пузанова Л.А.</i>	58
<i>Histoplasma capsulatum</i> В КОМПЛЕКСАХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ПОВЕРХНОСТИ ВЛАЖНОГО ПОТОЛКА И СТЕН ПОМЕЩЕНИЯ <i>Пячюлите Д.</i>	59
УСЛОВНО ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В ВОЗДУХЕ БОЛЬНИЧНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ <i>Суханова Ю.А.</i>	63
АРБУСКУЛЯРНО-МИКОРИЗНЫЙ ГРИБ И БОБОВОЕ РАСТЕНИЕ – НАДОРГАНИЗМЕННАЯ СИСТЕМА <i>Юрков А.П.</i>	64
ОПТИМИЗАЦИЯ ЗАЩИТЫ ЯБЛОНИ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОЗБУДИТЕЛЯ <i>Якуба Г.В.</i>	65

Глава 3 ПРОБЛЕМЫ АЛЛЕРГИИ И ИММУНОПАТОЛОГИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ГРИБАМИ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМНЫХ АНТИМИКОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОГЕННОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ <i>Ахунова А.М., Ахунов В.М.</i>	68
ИММУННЫЕ И ОБМЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МИКОТИЧЕСКОЙ ЭКЗЕМОЙ И ИХ ДИНАМИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ <i>Барабанов А.Л.</i>	69
МИКОГЕННЫЕ АЛЛЕРГЕНЫ <i>Желтикова Т.М.</i>	71

КОРРЕКЦИЯ ДИСБАКТЕРИОЗОВ КИШЕЧНИКА И РОТОВОЙ ПОЛОСТИ В КОМПЛЕКСНОЙ ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ПНЕВМОНИЕЙ <i>Караулов А.В., Бицоева З.В.</i>	72
ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У РАБОЧИХ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ, БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗАМИ <i>Кошкин С.В., Зайцева Г.А.</i>	73
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ, ВЫЗВАННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ К НЕПАТОГЕННЫМ ПЛЕСНЕВЫМ ГРИБАМ В УСЛОВИЯХ СИБИРИ <i>Лазаренко Л.Л., Лазуткина Е.Л., Лузгина Н.Г., Музыченко Л.М., Цырендоржиев Д.Д., Шкурупий В.А.</i>	75
ОСОБЕННОСТИ МИКОБИОТЫ ОРГАНИЗМА У БОЛЬНЫХ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ <i>Мавлянова Ш.</i>	75
ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ МИКОГЕННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА <i>Мавлянова Ш.З., Разикова Э.С., Мавлянова Н.Н., Исмагилов А.И.</i>	77
МИКОТИЧЕСКАЯ АЛЛЕРГИЯ: МЕХАНИЗМЫ РАЗНООБРАЗИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ И ВАРИАНТОВ <i>Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Титова Н.Д.</i>	79
РОЛЬ ГРИБОВ <i>Malassezia furfur</i> ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ <i>Соболев А.В., Котрехова Л.П., Гудкова Ю.И., Полухина О.Э., Шурницкая О.А., Колб З.К.</i>	83
ОСОБЕННОСТИ ГРИБКОВОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ <i>Титова Н.Д.</i>	84
ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ГРИБОВ РОДА <i>Candida</i> ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С АЛЛЕРГИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ <i>Фролова Н.А.</i>	87
РОЛЬ МИКОГЕННОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ В РАЗВИТИИ РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ <i>Чапленко Т.Н., Ландышев Ю.С., Лазуткина Е.Л.</i>	88

Глава 4

МИКОТОКСИКОЗЫ И ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К РАЗРАБОТКЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ

ПРОБЛЕМЫ НАКОПЛЕНИЯ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИХ МИКРОМИЦЕТОВ В ЗЕРНЕ И СЕМЕНАХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ <i>Бабаянц О.В.</i>	92
ЦИКЛОПИАЗОНОВАЯ КИСЛОТА: ПРОДУЦЕНТЫ ИЗ РОДА <i>Aspergillus</i> MICN.EX LK. В СОСТАВЕ МИКОБИОТЫ КОРМОВ <i>Буркин А.А., Пирязева Е.А., Кононенко Г.П., Малиновская Л.С.</i>	94

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ГРИБОВ РОДА <i>Fusarium</i> LK.: ПОТЕНЦИАЛ БИОСИНТЕЗА Т-2 ТОКСИНА И ДИАЦЕТОКСИСЦИРПЕНОЛА <i>Буркин А.А., Пирязева Е.А., Малиновская Л.С., Кононенко Г.П.</i>	95
ЦИТРИНИН: ПЕРВЫЕ ОЦЕНКИ РИСКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ КОРМОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (2003–2005) <i>Буркин А.А., Кононенко Г.П.</i>	97
ИЗУЧЕНИЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ Т-2 ТОКСИНА И ДЕЦИСА <i>Галаутдинова Г.Г., Егоров В.И., Тремасов М.Я.</i>	98
ТОКСИНЫ МИКРОМИЦЕТОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ <i>Зачиняев Я.В., Сергиенко С.С.</i>	101
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В КАЧЕСТВЕ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИДОТОВ ПРИ Т-2 ТОКСИКОЗЕ <i>Иванов А.В., Тертичная М.В., Гильмутдинов Р.Я., Тремасов М.Я.</i>	104
ПРИМЕНЕНИЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МИКОТОКСИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ <i>Иванов А.В., Семенов Э.И., Тремасов М.Я.</i>	106
ВЛИЯНИЕ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА В ₁ НА СВОЙСТВА ЛАКТОБАКТЕРИЙ <i>Иванченко О.Б., Мартынова Е.А., Пичугина Л.В., Пузанова О.П.</i>	109
СОВМЕСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ Т-2 ТОКСИНА И ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА <i>Кобзистая О.П.</i>	113
ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ И МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНОВКЕ И ЗЕРНОВОЙ МАССЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ <i>Львова Л.С., Седова И.Б., Кизленко О.И.</i>	114
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ МИКОТОКСИНА ФУМОНИЗИНА В ₁ <i>Мартынова Е.А.</i>	117
ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ГЕПАТОСАН» ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЯДОВИТЫМИ ГРИБАМИ <i>Мусселиус С.Г., Гладских Л.В.</i>	121
МИКОТОКСИНЫ ОХРАТОКСИН А И ФУМОНИЗИНЫ В ₁ И В ₂ В ПРОДУКТАХ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ <i>Седова И.Б., Аксенов И.В., Захарова Л.П.</i>	124
МИКОТОКСИНЫ В КОРМАХ – ОДНА ИЗ ПРОБЛЕМ СОВРЕМЕННОГО ЖИВОТНОВОДСТВА В ЮЖНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ <i>Фетисов Л.Н., Солдатенко Н.А., Русанов В.А.</i>	125
ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИГЕННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО МЕТАБОЛИТА ИЗ <i>Aspergillus PARVULUS</i> SMITH <i>Цыганенко Е.С.</i>	127

**ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ТОКСИНОВ
МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ
ОТ ПАТОГЕНОВ**

Шемшурова О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н., Январева Н.И...... 128

**ЗАГРЯЗНЕНИЕ АРАХИСА ГРИБАМИ РОДА *Aspergillus* И
АФЛОТОКСИНАМИ**

Юсеф О., Эбрагим О., Баргум Б...... 129

Глава 5

**ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИМИКОТИКИ НОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И
МЕТОДЫ С ПРОТИВОГРИБКОВЫМИ СВОЙСТВАМИ**

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ
ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА И ПРОФИЛАКТИКИ
КАНДИДОЗА КИШЕЧНИКА**

Барышникова Н.В., Оришак Е.А., Нилова Л.Ю., Суворов А.Н...... 132

**ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ
АНТИФУНГАЛЬНЫХ ВАКЦИН**

Блинкова Л.П., Горобец О.Б...... 133

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИОЦИНОВ ПРИ ДИСБИОЗАХ,
ОБУСЛОВЛЕННЫХ ГРИБКОВЫМИ ПАТОГЕНАМИ**

Блинкова Л.П., Горобец О.Б., Дорофеева Е.С. 137

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ
В ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ КАНДИДОЗОВ ЛОР-ОРГАНОВ**

Вольская О.Г., Шинкаренко Л.Н., Зарицкая И.С., Заболотная Д.Д. 138

**РОСТ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ПРИСУТСТВИИ
ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

Гончарова И.А., Ровбель Н.М., Мицкевич А.Г. 140

**АНТИФУНГАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО АМИНОАДАМАНТАНА
ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖЕПОДОБНЫМ ГРИБАМ**

Денысюк Н.Н., Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н., Короткий Ю.В...... 143

К ВОПРОСУ О ПОИСКЕ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ В МИКОЛОГИИ

Дигтярь А.В., Воронина Е.К...... 144

**ПОИСК МИКРОБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БАКТЕРИОЦИНОВ ИЛИ
БАКТЕРИОЦИНОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ С АНТИКАНДИДОЗНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ**

Дорофеева Е.С., Блинкова Л.П., Машенцева Н.Г...... 145

**ВЛИЯНИЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ С
АНТИМИКОТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ НА МУКОЦИЛИАРНЫЙ
ТРАНСПОРТ СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ НОСА**

Зарицкая И.С...... 146

**ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СПОРОВЫХ
ПРОБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА *Candida***

Мефед К.М., Осипова И.Г., Васильева Е.А...... 148

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
МИКОТОКСИКОЗОВ ЖИВОТНЫХ**

Петрова Н.В., Тремасов М.Я., Кахаберидзе В.В...... 149

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛИНА

Расторгуева Е.С., Денюсюк Н.Н., Врынчану Н.А., Максимов Ю.Н., Беленичев И.Ф. 151

АТАКА МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОТИВОДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕРОВ

Савельев Ю.В., Робота Л.П., Веселов В.Я., Пархоменко Н.И., Савельева О.А., Руденко А.В., Коваль Э.З., Ленова Л.И. 152

ФОТОФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТИОННЫХ ФТАЛОЦИАНИНОВ

Страховская М.Г., Шумарина А.О., Негримовский В.М., Кузьмин С.Г. 153

МЕТАБОЛИЗМ ХИТИНА У МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ КАК МИШЕНЬ ДЛЯ БОРЬБЫ С МИКОЗАМИ

Феофилова Е.П. 155

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИМИКОТИКА ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА И ПРЕПАРАТОВ МИФУНГАР И НИЗОРАЛ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Шилова И.Б., Пушкина Т.В., Гуськова Т.А. 156

Глава 6

МИКОЗЫ: ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ СРЕДСТВАМ

LABORATORY EVALUATION OF SENSITIVITY OF *Candida*' STRAINS ON SELECTED ANTIFUNGAL PREPARATIONS

Jaworska-Zaremba M., Dąbkowska M., Swoboda-Kopeć E., Blachnio S., Mierzwińska-Nastalska E., Łuczak M. 160

RESISTANCE TO ITRACONAZOLE IN CLINICAL ISOLATES OF *Candida* GLABRATA *In vitro*

Swoboda-Kopeć E., Dąbkowska M., Netsvyetayeva I., Blachnio S., Jaworska-Zaremba M., Stelmach E., Łuczak M. 161

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФЛУКОНАЗОЛУ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗЛОЛЯТОВ *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

Васильева Н.В., Выборнова И.В., Богомолова Т.С., Чилина Г.А., Михайлова М.А., Босак И.А. 163

ИЗМЕНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ В ПРИСУТСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Войчук С.И., Громозова Е.Н. 164

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОКЦИДИОИДОМИКОЗА К КЕТОКОНАЗОЛУ

Гришина М.А., Лесовой В.С., Липницкий А.В., Ткаченко Г.А., Антонов В.А. 166

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТАМ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА <i>Candida</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ФЕКАЛИЙ И ВЛАГАЛИЩА <i>Захарова Е.А., Шамбилова Н.А., Азизов И.С.</i>	167
АНАЛИЗ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ <i>Candida albicans</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ ДИАРЕЯМИ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКСТАН <i>Норбоев Н.М., Ибадова Г.А.</i>	169
ОПРЕДЕЛЕНИЕ <i>In vitro</i> ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФЛУКОНАЗОЛУ И ВОРИКОНАЗОЛУ ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММОВ <i>Candida spp.</i> В ДВУХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ СТАЦИОНАРАХ МОСКВЫ <i>Птицин С.А., Клясова Г.А., Масчан А.А.</i>	170
СОПОСТАВЛЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ <i>Candida spp.</i> К ФЛУКОНАЗОЛУ: ДИСКО-ДИФФУЗИОННОГО И ТЕСТ-СИСТЕМ «FUNGITEST» <i>Птицин С.А., Клясова Г.А.</i>	172
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ <i>In vitro</i> ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ ТЕРБИНАФИНА <i>Федотов В.П., Светашов О.М., Коваленко Ю.Б.</i>	173
РЕЦИДИВИРУЮЩИЙ КАНДИДОЗ ПИЩЕВОДА У ВИЧ/СПИД-НЕГАТИВНЫХ БОЛЬНЫХ: ВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИХ К ФЛУКОНАЗОЛУ <i>Шевяков М.А., Мелехина Ю.Э., Выборнова И.В., Колб З.К., Богомолова Т.С., Климко Н.Н.</i>	174

Глава 7

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ГРИБОВ

НОВЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ДОБАВКИ НА ОСНОВЕ ГЛУБИННОГО МИЦЕЛИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздкова Т.С.</i>	178
ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БАДов СЕРИИ «МИКОСВИТ» <i>Бысько Н.А., Шевчук Е.Ю., Митропольская Н.Ю., Билай В.Т.</i>	180
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКОТОНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ С <i>Вовк А.Д., Соляник И.В., Сенюк О.Ф., Ковалев В.А., Задорожная Л.В., Немченко Н.Н., Кляуз Н.В., Горовой Л.Ф.</i>	183
РАЗРАБОТКА ПУТЕЙ СТАБИЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ «ЛЕТИПОРИН» <i>Гвоздкова Т.С., Черноок Т.В., Бабицкая В.Г.</i>	185
НОВОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ИЗ ЭКСТРАКТА ГРИБА <i>Fusarium sambucinum</i> ОБЛАДАЮЩЕЕ ВЫСОКИМ ГЕПЕТОПРОТЕКТЕРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ <i>Григораш А.И., Макланов А.И., Бобров В.И., Окунев О.Н., Самойленко В.А., Терешина В.М., Феофилова Е.П.</i>	188

БАД «ФЛОРАВИТ-Э» НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА <i>Fusarium</i> <i>SAMBUCINUM</i> – ЭФФЕКТИВНЫЙ ИММУНОМОДУЛЯТОР И АДАПТОГЕН <i>Григораш А.И., Зайкина М.Ю., Погорельская Л.В., Бредихина Н.А., Трифонов А.В.</i>	190
ПРИМЕНЕНИЕ ОЗДОРОВИТЕЛЬНОЙ КОСМЕТИКИ И БАД «ФЛОРАВИТ» НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА <i>Fusarium</i> <i>SAMBUCINUM</i> ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ <i>Зайкина М.Ю., Буякова И.В., Острокостова Н.В., Шилкина Н.М., Сеселкина Т.Н.</i>	195
НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ <i>Петров П.Т., Скрипко А.Д., Литвинова Е.В., Дедюшко Н.А., Гриневич Л.Н.</i>	198
КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ГРИБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ – ТРИАЗА <i>Пленина Л.В., Гаврилов О.К., Кручинский Н.Г., Максимова Р.А., Серебрякова Т.Н., Цыманович С.Г.</i>	200
ГИСТОЛОГИЯ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА МИКОТОН В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНЫХ РАН <i>Прилуцкая А.Б., Прилуцкий А.И., Дубчак В.Е., Горовой Л.Ф.</i>	201
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИТИНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА МИКОТОН В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ <i>Сенюк Х.В., Сенюк О.Ф., Горовой Л.Ф.</i>	204
ИММУНОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА БАД «ТРАМЕЛАН». БИОХИМИЧЕСКИЕ, МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ <i>Скворцова М.М., Горшина Е.С.</i>	206
ЛОНГОЛИТИН – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ <i>Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н., Подорольская Л.В., Неумывакин Л.В., Хромов И.С.</i>	210

Глава 8

НОВЫЕ ГРИБНЫЕ BIOTECHNOLOGIES В МЕДИЦИНЕ

ПРОБИОТИЧЕСКИЕ И ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ЧАЙНОГО ГРИБА <i>Авакян А.Д.</i>	214
ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ МИЦЕЛИЯ <i>Ganoderma lucidum</i> : BIOTECHNOLOGIES ПОЛУЧЕНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА <i>Автономова А.В., Белицкий И.В., Исакова Е.Б., Евсенко М.С., Седакова Л.А., Усов А.И., Трещалина Е.М., Тихонов В.П., Бухман В.М., Краснопольская Л.М.</i>	217

Phallus impudicus (L.: PERS), <i>Hericium erinaceus</i> (BULL.: FR) PERS И Trametes versicolor (FR.) QUEL – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ	
<i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Филимонова Т.В., Рожкова З.А., Поединок Н.Л., Трухоновец В.В., Осадчая О.В.</i>	220
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ГРИБОВ <i>Flammulina velutipes</i> И <i>Ganoderma lucidum</i>	
<i>Бабицкая В.Г., Трухоновец В.В., Осадчая О.В., Рожкова З.А., Филимонова Т.В., Черноок Т.В.</i>	222
<i>Hericium erinaceus</i> : БИОТЕХНОЛОГИИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА	
<i>Белицкий И.В., Автономова А.В., Исакова Е.Б., Леонтьева М.И., Баканов А.В., Усов А.И., Бухман В.М., Краснопольская Л.М.</i>	225
ВЛИЯНИЕ НА-ИУК НА АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ШТАММА M-81 <i>HIRSCHIOPORUS LARICINUS</i> (KARST.) RYU	
<i>Бойко М.И.</i>	228
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ФЕРМЕНТОВ ПЕКТОЛИТИЧЕСКОГО И МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ	
<i>Бойко С.М., Филиппова Ю.О.</i>	230
ОБРАЗОВАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ АНТИБИОТИКОВ С АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ КИСЛОТОУСТОЙЧИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ	
<i>Борисова Н.А., Бибицова М.В., Спиридонова И.А., Катлинский А.В.</i>	232
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРИБОВ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ДРЕВЕСНЫХ ОСТАТКОВ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ	
<i>Волчатова И.В., Медведева С.А., Иконникова Н.В., Смирнов Д.А., Капич А.Н., Бабицкая В.Г., Щерба В.В.</i>	236
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СИНТЕЗ МЕЛАНИНА ГРИБАМИ <i>Rhellinus robustus</i> И <i>Inonotus obliquus</i> В ПОВЕРХНОСТНОЙ КУЛЬТУРЕ	
<i>Иконникова Н.В., Бабицкая В.Г., Щерба В.В.</i>	238
ПОИСК МЕТАБОЛИТОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ С ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ	
<i>Исангалин Ф.Ш., Артюхин В.И., Лиховидов В.Е., Косарева Н.И., Коробова Н.А., Быстрова Е.В.</i>	241
НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ	
<i>Капич А.Н.</i>	243
ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫЕ ПРОТЕАЗЫ И НУКЛЕАЗЫ <i>RYRENOPHORA</i> <i>TERES DRECHS</i> И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ	
<i>Карпук В.В.</i>	245
ВЫСШИЕ БАЗИДИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ <i>Schizophyllum commune</i> И <i>Laetiporus</i> <i>sulphureus</i> КАК ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ	
<i>Линовицкая В.М., Дзыгун Л.П., Клечак И.Р., Бухало А.С.</i>	246

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ПРОДУЦЕНТОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ <i>Лиховидов В.Е., Наумов А.Н., Ариповский А.В.</i>	249
ФАГОЦИТОЗ-СТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ПОЛИСАХАРИДОВ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ <i>Смирнов Д.А., Бабицкая В.Г., Пучкова Т.А., Щерба В.В.</i>	252
ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ МЕЛАНИНОВ ИЗ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ <i>Сушинская Н.В., Курченко В.П., Горовой Л.Ф., Сенюк О.Ф.</i>	255
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НАТРИЕВОЙ СОЛИ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПОЛУЧАЕМОЙ ИЗ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> <i>Ханис А.Ю., Воронин С.П., Гуменюк А.П., Федоров Ю.Н.</i>	259
НЕМАТИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ФРАКЦИЙ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ <i>Шемишур О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н.</i>	260
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДОВ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ <i>Шишкина Л.Н., Капич А.Н.</i>	262
ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ МЕСТНОГО ШТАММА <i>Inonotus obliquus</i> <i>Щерба В.В., Бабицкая В.Г., Иконникова Н.В., Бисько Н.А.</i>	263

Глава 9 КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ГРИБЫ И ИХ МЕДИЦИНСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В БЕЛАРУСИ ШТАММОВ <i>Ganoderma lucidum</i> <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А., Бисько Н.А., Смирнов Д.А.</i>	268
СКОРОСТЬ РОСТА МИЦЕЛИЯ РОДА <i>CORIOLUS QUEL</i> <i>Бисько Н.А., Соломко Э.Ф., Антоненко Л.А., Полищук Т.В.</i>	270
ГРИБЫ РОДА <i>CORDYCEPS</i> КАК ОБЪЕКТЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ, ИХ РЕСУРСЫ В РОССИИ И ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ <i>EX SITU</i> <i>Борисов Б.А., Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Жирков В.М., Леднев Г.Р., Глухов В.В.</i>	272
ШЛЯПОЧНЫЕ ГРИБЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЛЕЧЕБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК <i>Горовой Л.Ф.</i>	276
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ МИЦЕЛИЯ ВЕШЕНКИ <i>Евдокимова О.А., Польских С.В., Аксеновская В.Е.</i>	279

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА <i>LAETIPORUS SULPHUREUS</i> В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>Ефременкова О.В., Тихонова О.В., Ериова Е.Ю., Куляева В.В., Катруха Г.С., Камзолкина О.В., Иванов А.А.</i>	280
ИЗУЧЕНИЕ МИКОФИЛЬНЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОРЯДКА <i>Boletales</i> <i>Иванов Д.М.</i>	283
ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА НА ОСНОВЕ УТИЛЬНОГО МЯСНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ БАКТЕРИЙ И МИКРОМИЦЕТОВ <i>Калягина С.Ю., Блинкова Л.П.</i>	285
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА <i>Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х.</i>	286
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ РОДА <i>GANODERMA</i> P. KARST <i>Круподерова Т.А.</i>	288
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАКРОМИЦЕТОВ РОДА <i>MORCHELLA</i> В ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЕ <i>Михайлова О.Б., Бухало А.С.</i>	290
ВЗАИМООТНОШЕНИЯ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ И ПОЧВЕННЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА <i>Azospirillum</i> <i>Никитина В.Е., Цивилева О.М., Лощина Е.А.</i>	293
СОХРАНЕНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ EX SITU ГЕНОФОНДА МАКРОМИЦЕТОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ИНТЕРЕС ДЛЯ МЕДИЦИНЫ <i>Псурцева Н.В., Белова Н.В.</i>	295
КСИЛОТРОФНЫЕ ГРИБЫ РОДОВ <i>GANODERMA</i> И <i>LENTINUS</i> – ПРОДУЦЕНТЫ ПОЛИСАХАРИДОВ <i>Пучкова Т.А., Смирнов Д.А.</i>	297
ОБОГАЩЕНИЕ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ЦИНКОМ <i>Ровбель Н.М.</i>	300
СВЯЗЫВАНИЕ ИОНОВ СТРОНЦИЯ БИОМАССОЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ <i>Ровбель Н.М., Гончарова И.А., Гутько Н.И.</i>	302
ОПТИМИЗАЦИЯ СРЕДЫ ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИЦЕЛИЯ <i>FOMITOPSIS OFFICINALIS</i> <i>Сидоренко М.Л.</i>	304
ШТАММЫ <i>LENTINUS EDODES</i> : МОРФОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НА ВЕГЕТАТИВНОЙ И ГЕНЕРАТИВНОЙ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ <i>Соболева Н.Ю., Белицкий И.В., Федорова Г.Б., Катруха Г.С., Краснопольская Л.М.</i>	307
БИОЛОГИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА БУКОВОГО ГРИБА <i>HYPSIZYGUS MARMOREUS</i> (РЕСК) <i>VIGEL</i> <i>Соломко Э.Ф., Ломберг М.Л., Бухало А.С.</i>	309

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА DAEDALEA QUERCINA, ПРОЯВЛЯЕМАЯ В УСЛОВИЯХ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>Тихонова О.В., Антонова В.Н., Толстых И.В., Ефременкова О.В.</i>	311
ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ РОСТА МИЦЕЛИЯ, СЪЕДОБНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА ОПЕНКА ЗИМНЕГО FLAMMULINA VELUTIPS (FR.) P. KARST <i>Шелок А.И.</i>	313

Глава 10

ОРГАНИЗАЦИЯ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ И ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

МЕСТО КУРСА «ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ» В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ <i>Курочкин С.А., Медведев А.Г.</i>	316
СИСТЕМА ДОВУЗОВСКОЙ ПОДГОТОВКИ КАК ВАЖНЫЙ ФАКТОР НЕПРЕРЫВНОСТИ ОБЩЕГО И ВУЗОВСКОГО МИКОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ. ОБ ОРГАНИЗАЦИИ ДОВУЗОВСКОЙ СИСТЕМЫ ОБУЧЕНИЯ <i>Митюшкин В.В., Зачиняев Я.В.</i>	318
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В МИКОЛОГИИ <i>Рыжко П.П., Рощенок Л.В.</i>	322
КАТАЛОГ КУЛЬТУР МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ И БАКТЕРИЙ ГНУ ВНИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ <i>Свиридова О.В., Оследкин Ю.С., Воробьев Н.И., Максимова Л.М.</i>	323
ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ВОЛГОГРАДСКОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА ПО ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МИКОЛОГИИ <i>Тарасова Т.Д., Лесовой В.С., Новицкая И.В., Липницкий А.В., Прохватилова Е.В.</i>	324
ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ КАФЕДРЫ ПО ПРОБЛЕМАМ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ <i>Федотов В.П.</i>	326

Научное издание

Успехи медицинской микологии

под общей научной редакцией
Ю.В. Сергеева

Том VII

Издательство «Национальная академия микологии»
<http://www.mycology.ru>

Подписано в печать 28.02.2006 г. Формат 60x90/16.
Печать офсетная. Печ. л. 21,75. Тираж 900 экз