

## References

1. Informatsionny byulleten po VICH/SPIDu / YuNEYDS, 2014 <http://www.unaids.org/ru/resources/campaigns/World-AIDS-Day-Report-2014/factsheet>
2. Lecheniye i pomoshch pri VICH/SPIDe. Klinicheskiye protokoly dlya Yevropeyskogo regiona VOZ / VOZ. Yevropeyskoye regionalnoye byuro. Kopenhagen, 2007. – 552 p.
3. Metodicheskiye rekomendatsii po vtoromu pokoleniyu epidemiologicheskogo nadzora za VICH: sleduyushcheye desyatiletie / WHO/CDS/EDC/2000.5 UNAIDS/00.03R [http://www.who.int/hiv/pub/epidemiology/secondgeneration\\_ru.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/epidemiology/secondgeneration_ru.pdf)
4. Natsionalnye klinicheskiye rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu VICH u vzroslykh / Natsionalnaya virusologicheskaya assotsiatsiya. M.; 2014. 75 p.
5. Natsionalny doklad Rossyskoy Federatsii o khode vypolneniya Deklaratsii o priverzhennosti delu borby s VICH/SPIDom, prinyatoy v khode 26-y spetsialnoy sessii Generalnoy Assamblei OON, iyun 2001 g. Otchetny period: yanvar 2008 goda – dekabr 2009 goda. M.; 2010. 76 p.
6. O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossyskoy Federatsii v 2013 g.: Gosudarstvenny doklad. – M.: Federalnaya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka, 2014. – 191 p. <http://debri-dv.ru/file-data/files/1315.pdf>
7. Onishchenko G.G. VICH-infektsiya i immunosupressii. – HIV infection and immunosuppression. 2009;1(1):5-9.
8. Pokrovsky V.V. Spravka «VICH-infektsiya v Rossyskoy Federatsii v 2013 g.». Federalny nauchno-metodichesky tseñtr po profilaktike i borbe so SPIDom. 2013. 8 p.
9. Golubeva M.V., Vergunova I.V., Barycheva L.Yu., Kastarnova N.A., Ponomar O.V. *Meditsinskii Vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2014;9(3):276-278.
10. Sarankov Yu.A. Priverzhennost vysokoaktivnoy antiretrovirusnoy terapii sredi potrebiteley inyeksionnykh narkotikov: effektivnye programmy vmeshatelstv. Obzor nauchnoy literatury. SPID fond vostok-zapad; 2005. 48 p.
11. Bartlett J.G. Selecting antiretroviral regimens for the treatment naive HIV-infected patient. UpToDate. 2013. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/selecting-antiretroviral-regimens-for-the-treatment-naive-hiv-infected-patient> (accessed 07 November, 2014).
12. Global HIV/AIDS response. Epidemic update and health sector progress towards Universal Access. Progress Report WHO/UNAIDS/UNICEF. 2011. 225 p.
13. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013. UNAIDS/JC2502/1/E. 2013. 198 p.
14. Thompson M.A., Aberg J.A., Hoy J.F. *JAMA*. 2012;308(4):387-402.
15. HPSC. HIV in Ireland 2013 report. May 2014. Available from: <http://www.hpsc.ie/A-Z/HIVSTIs/HIVandAIDS/SurveillanceReports/File,14651,en.hdf> (accessed on 29.11.2014).

© Т. М. Головинская, О. И. Цыганкова, 2015

УДК 579.852.11

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10005>

ISSN – 2073-8137

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММОВ BACILLUS ANTHRACIS НА ИХ ФАГОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Т. М. ГОЛОВИНСКАЯ, О. И. ЦЫГАНКОВА

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Россия

## EFFECT OF BACILLUS ANTHRACIS STRAINS CULTURE CONDITIONS ON THEIR PHAGOSENSITIVITY

GOLOVINSKAYA T. M., TSYGANKOVA O. I.

Stavropol Research Institute for Plague Control, Russia

Изучено влияние индивидуальных особенностей капсулообразования штаммов *B. anthracis* в различных условиях культивирования на чувствительность к семи специфическим сибиреязвенным бактериофагам – Гамма А-26, Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, 186, ВА-9, Саратов, К ВИЭВ.

Установлено, что типичные штаммы *B. anthracis*, образующие колонии R-типа в акапсульной форме, чувствительны ко всем изученным бактериофагам, в отличие от штаммов, формирующих колонии OSS-типа, которые в этих условиях не лизируются бактериофагами Fah-ВНИИВВиМ, К ВИЭВ, Саратов и 186, что также связано с некоторыми изменениями строения поверхностных структур бактериальных клеток и биологическими особенностями указанных бактериофагов. Все штаммы в капсульной форме, независимо от индивидуальных потребностей в условиях формирования капсулы, были нечувствительны к лизирующему действию специфических сибиреязвенных бактериофагов. При проведении индикации и идентификации *B. anthracis* с использованием препаратов специфических сибиреязвенных бактериофагов необходимо учитывать существование атипичных штаммов, способных формировать капсулу на обычных питательных средах в атмосфере воздуха, что делает их нечувствительными к литическому действию бактериофагов.

*Ключевые слова:* условия культивирования, штаммы *Bacillus anthracis*, капсулообразование, фагочувствительность

Effect of individual characteristic of *B. anthracis* strains capsule formation is studied in various culture conditions on sensitivity to seven specific anthrax bacteriophages: Gamma A-26, Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, 186, BA-9, Saratov, K-ВИЭВ was studied. It has been established that typical *B. anthracis* strains, forming R-type colonies in acapsular form were sensitive to all studied bacteriophages, unlike strains forming OSS-type colonies which were not lysed by bacteriophages Fah-ВНИИВВиМ, K-ВИЭВ, Saratov and 186 in such conditions which is also connected with some changes in the structure of surface structures of bacterial cells and with biological features of mentioned bacteriophages. All strains in the capsular form, irrespective of individual capsule formation requirements, were insensitive to the lytic action of specific anthrax bacteriophages. When carrying out indication and identification of *B. anthracis* with the use of preparations of specific anthrax bacteriophages it should be taken into consideration the possibility of existence of atypical strains capable of forming a capsule on usual cultural media in air atmosphere that makes them insensitive to the lytic action of bacteriophages.

*Key words:* culture conditions, *Bacillus anthracis* strains, capsule formation, phagosensitivity

**С**пецифические сибиреязвенные бактериофаги используются в целях индикации и идентификации *B. anthracis*. Высказываются предположения о возможности использования бактериофагов и лизинов для лечения больных и дезинфекции объектов, контаминированных возбудителем сибирской язвы [1, 4, 5, 6].

Особенность сибиреязвенного микроба – возможность существовать в трех морфо-функциональных формах: вегетативной акапсульной, вегетативной капсульной и споровой.

Значительный интерес представляет вопрос воздействия различных сибиреязвенных бактериофагов на капсульные культуры штаммов *B. anthracis* как на специальных средах в условиях повышенного содержания углекислого газа (для типичных по капсулообразованию штаммов), так и на обычных питательных средах в атмосфере воздуха для штаммов SM-типа, образующих в этих условиях капсулу.

Цель настоящей работы – изучить влияние условий культивирования штаммов *B. anthracis* с различными фенотипическими свойствами на их фагочувствительность.

**Материал и методы.** Для изучения влияния индивидуальных особенностей капсулообразования штаммов в различных условиях на чувствительность к бактериофагам была отобрана группа штаммов *B. anthracis*, отличающихся по способности к капсулообразованию: *B. anthracis* 81/1, 1284 типичные штаммы, образующие капсулу *in vivo* и на сывороточно-бикарбонатном агаре в условиях повышенного содержания углекислого газа, штаммы *B. anthracis* 12/16 S и 140 П, способные к капсулообразованию на питательных средах в атмосфере воздуха, штаммы СТИ-I, СТИ-II, 228/8, 55 не образуют капсулу ни при каких условиях (отсутствует плазида рХО2). Все штаммы *B. anthracis* были получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.

В качестве питательных сред применяли: бульон Хоттингера; агар Хоттингера; среда, приготовленная на основе LB по Миллеру (фирма

AppliChem, USA; состав: дрожжевой экстракт биохимический 5 г/л, натрий хлорид 10 г/л, триптон 10 г/л); сывороточно-бикарбонатный агар (в 100 мл агара Хоттингера добавлено 10 мл 10 % раствора соды, 10 мл инактивированной при 56 °С – 30 мин лошадиной сыворотки).

В экспериментах использовали бактериофаги: Гамма А-26 ( $2,2 \times 10^9$  БОЕ/см<sup>3</sup>), Fah-ВНИИВВиМ ( $1 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>), R/D-Ph-6 ( $1 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>) в виде фаг-тест набора «Оболенск R1», 186 ( $2,5 \times 10^{10}$  БОЕ/см<sup>3</sup>), BA-9 ( $2,8 \times 10^9$  БОЕ/см<sup>3</sup>), Саратов ( $1,5 \times 10^{10}$  БОЕ/см<sup>3</sup>), К ВИЭВ ( $1,9 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>).

Чувствительность культур к бактериофагам определяли чашечным методом [2]. Результат оценивали визуально по четырехкрестовой системе. Полный лизис культуры на месте нанесения бактериофага оценивали на (++++); наличие единичных колоний культуры на фоне зоны её лизиса в месте нанесения – на (+++), резкое ослабление роста – на (++) , наличие единичных негативных колоний бактериофага на фоне сплошного роста культуры – на (+), отсутствие лизиса – (-). Положительной считали пробу при оценке не менее чем на (+++).

**Результаты и обсуждение.** При постановке пробы с бактериофагами классическим методом: получение 18–20-часовой вегетативной культуры *B. anthracis* на агаре Хоттингера, пересев ее в бульон Хоттингера с последующим использованием 4–5-часовой бульонной культуры для получения газонного роста на агаре Хоттингера и нанесения бактериофагов все штаммы, включая 12/16 S и 140 П, лизировались бактериофагами Гамма А-26, BA-9, R/D-Ph-6. Бактериофаги Fah-ВНИИВВиМ, 186, BA-9, Саратов, К ВИЭВ не лизировали штаммы СТИ-II и 55, обладающие признаками OSS-типа колоний (варианты, атипичные по морфологии по классификации Л. И. Маринина, 2009) [3].

Следует отметить, что штаммы 12/16 S и 140 П на различных питательных средах и отдельных сериях агара Хоттингера (не содержащих инактивированную сыворотку крови животных и бикарбонат натрия) не одинаково интенсивно синтезируют капсулу. Исходя из

этого для сравнительной оценки чувствительности к бактериофагам штаммов с различным типом капсулообразования использовали более стандартную среду, приготовленную на основе LB по Миллеру.

Постановка теста была стандартной, инкубация осуществлялась в атмосфере воздуха. В этих условиях штамм 140 П рос в выраженной SM-форме и не лизировался ни одним из бактериофагов. Штамм 12/16 S формировал блестящие колонии с менее выраженным слизистым слоем (в мазках, окрашенных по Ребигеру – палочки, окруженные капсулой менее выраженной, чем у штамма 140 П) лизировался бактериофагами Гамма А-26, ВА-9, R/D-Ph-6 и был устойчив к действию бактериофагов Fah-ВНИИВВиМ, 186, ВА-9, Саратов, К ВИЭВ. Остальные штаммы росли в акапсульной форме и все лизировались фагами Гамма А-26, ВА-9, R/D-Ph-6, в то время как бактериофаги Fah-ВНИИВВиМ, 186, ВА-9, Саратов, К ВИЭВ, как и на агаре Хоттингера, не лизировали штаммы СТИ-II и 55.

При проведении теста на чувствительность к бактериофагам типичного по всем основным фенотипическим свойствам референс-штамма *B. anthracis* 81/1 в классической постановке результат был положителен со всеми бактериофагами. В условиях выращивания на сывороточно-бикарбонатном агаре в атмосфере повышенного содержания углекислого газа в классическом варианте постановки пробы на месте нанесения бактериофагов отмечалось некоторое разрежение газонного роста культуры, что могло возникнуть вследствие действия бактериофагов на акапсульную культуру, которая подращивалась в бульоне Хоттингера в обычных условиях (капсула еще не успела сформироваться после пересева на сывороточно-бикарбонатный агар и помещения в анаэроостат). Для исключения такой возможности подращивание в бульоне было заменено приготовлением взвеси вегетативной культуры в капсульной форме (20-часовая культура, выращенная на сывороточно-бикарбонатном агаре в анаэроостате), которую засеивали на сывороточно-бикарбонатный агар и после нанесения

бактериофагов помещали в анаэроостат с повышенным содержанием углекислого газа. В этом случае на фоне ровного газонного роста капсульной культуры не отмечалось никаких изменений. Использование данного варианта постановки теста выявило, что в условиях культивирования, оптимальных для капсулообразования, штаммы, формирующие капсулу, не чувствительны к действию всех испытанных бактериофагов. Штаммы, не имеющие генетических детерминант, ответственных за синтез капсульного вещества и формирование капсулы, сохраняли различия в чувствительности к бактериофагам Fah-ВНИИВВиМ, 186, ВА-9, Саратов, К ВИЭВ, ранее выявленные на обычных питательных средах.

**Заклучение.** Анализ результатов исследований свидетельствует о том, что одним из решающих факторов чувствительности *B. anthracis* к литическому действию специфических бактериофагов является состояние поверхностных структур бактериальных клеток.

Типичные штаммы *B. anthracis*, образующие колонии R-типа в акапсульной форме, чувствительны ко всем изученным бактериофагам, в отличие от штаммов, формирующих колонии OSS-типа, которые в этих условиях не лизируются бактериофагами Fah-ВНИИВВиМ, К ВИЭВ, Саратов и 186, что, вероятно, связано с некоторыми особенностями строения поверхностных структур бактериальных клеток и биологическими особенностями указанных бактериофагов.

Все штаммы в капсульной форме, независимо от индивидуальных потребностей в условиях формирования капсулы, не чувствительны к лизирующему действию специфических сибиреязвенных бактериофагов, что делает проблематичным их применение для лечения больных людей и животных.

При проведении индикации и идентификации *B. anthracis* с использованием препаратов специфических сибиреязвенных бактериофагов необходимо учитывать существование атипичных штаммов, способных формировать капсулу на обычных питательных средах в атмосфере воздуха, что делает их нечувствительными к литическому действию бактериофагов.

#### Сведения об авторах:

Головинская Татьяна Михайловна, научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора; тел.: 89097622520; e-mail: anthraxlab@mail.ru

Цыганкова Ольга Ивановна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сибирской язвы ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора; тел.: (8652)260312; e-mail: anthraxlab@mail.ru

#### Литература

1. Дятлов, И. А. Актуальные проблемы медицинской микробиологии / И. А. Дятлов // ЖМЭИ. – 2013. – № 1. – С. 88–93.
2. Методические указания МУК 4.2.2413-08 Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы. – М., 2008.
3. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы (Учебно-методическое пособие) / Л. И. Маринин, И. А. Дятлов, А. Н. Мокриевич и др. – М.: ЗАО «Гигиена», 2009. – 304 с.
4. Озеров, М. Ю. Активация рецепторов прорастания спор *B. anthracis* / М. Ю. Озеров, В. Г. Попов, Н. Н. Каркищенко и др. // Биомедицина. – М., 2011. – Вып. 2. – С. 18–23.
5. Попов, В. Г. Роль бактериофагов *B. anthracis* в противодействии биотерроризму / В. Г. Попов, В. Н. Карки-

щенко, С. Ю. Пчелинцев и др. // Биомедицина. – М., 2006. – Вып. 2. – С. 24–32.

6. Патент РФ № 2412769 Способ нейтрализации спор и вегетативных клеток *Bacillus anthracis* /

В. Г. Попов, С. Ю. Пчелинцев, М. Ю. Озеров, Д. В. Попов. – Опубл. 27.02.2011. – Бюл. № 6 (II ч). – С. 425–426.

#### References

1. Dyatlov I. A. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunologii*. – *J. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2013;1:88-93.
2. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.2413-08 Laboratornaya diagnostika i obnaruzhenie возбудителя sibirskoj jazvy. М.; 2008.
3. Marinin L. I., Dyatlov I. A., Vokrievich A. N., Bakhteva I. V., Belova E. V., Borsilov A. I., Kombarova T. I., Kravchenko T. B., Mironova R. I., Popova V. M., Somov A. N., Titareva G. M., Tyurin E. A., Chekan L. V., Shishkina O. B., Shishkova N. A. Metody izuchenija biologicheskikh svojstv возбудителя sibirskoj jazvy. М. : ZAO«Gigiena»; 2009. 304 p.
4. Ozerov M. Yu., Popov V. G., Karkischenko N. N., Popov D. V., Pchelintsev S. Yu., Karkischenko V. N. *Biomedicina – Biomedicine.* 2011;2:18-23.
5. Popov V. G., Karkischenko V. N., Pchelintsev S. Yu., Popov D. V., Starshov A.A. *Biomedicina – Biomedicine.* 2006;2:24-32.
6. Popov V. G., Pchelintsev S. Yu., Ozerov M. Yu., Popov D. V. RF Patent No. 2412769 Sposob nejtralizacii spor i vegetativnyh kletok. Published 27.02.2011. Bull. № 6 (Part II). P. 425-426.

© Коллектив авторов, 2015

УДК 616.24-007.63:616.25-003.219

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2015.10006>

ISSN – 2073-8137

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПРИ БРОНХОЛЕГОЧНОМ СИНДРОМЕ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

М. В. ВЕРШИННИНА, Г. И. НЕЧАЕВА, А. А. ХОМЕНЯ, О. В. ДРОКИНА

Омская государственная медицинская академия, Россия

## EFFECTIVENESS OF MEDICAL REHABILITATION AT BRONCHOPULMONARY SYNDROME IN PATIENTS WITH CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

VERSHININA M. V., NECHAYEVA G. I., KHOMENYA A. A., DROKINA O. V.

Omsk State Medical Academy, Russia

Для оценки эффективности медицинской реабилитации при различных клинических вариантах бронхолегочного синдрома у лиц с дисплазией соединительной ткани обследовано 174 пациента с ДСТ в возрасте 18–40 лет. Все пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от преобладающего клинического варианта бронхолегочного синдрома. Получены данные, подтверждающие эффективность индивидуальной реабилитационной программы через 12 месяцев наблюдения.

*Ключевые слова:* дисплазия соединительной ткани, бронхолегочный синдром, реабилитация

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of medical rehabilitation at various clinical variants of bronchopulmonary syndrome in patients with connective tissue dysplasia. 174 patients aged 18–40 years were examined. All patients were divided into subgroups according to the predominant clinical variant of bronchopulmonary syndrome. The data supporting the efficacy of individual rehabilitation program after 12 months of observation were obtained.

*Key words:* connective tissue dysplasia bronchopulmonary syndrome, rehabilitation

**С**реди многообразия наследственно обусловленных заболеваний значительное место принадлежит дисплазии соединительной ткани (ДСТ), распространенность которой в популяции, по данным ряда авторов, составляет от 10 до 30 % [3]. К настоящему времени в вопросах ведения па-

циентов с дисплазией соединительной ткани достигнут определенный консенсус. Разработаны принципы и основные направления восстановительного лечения, апробированы основные методы и методики реабилитационного процесса [5]. Актуальной задачей сегодняшнего дня является создание и вне-