низма детей, уже измененной хронически протекающим дерматозом, что требует тщательной и эффективной фармакологической коррекции.

ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОЙ СПОСОБНОСТИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИФУНГАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ГРИБОВ РОДА CANDIDA В КОНТЕКСТЕ ИСТОЧНИКА ИЗОЛЯЦИИ

Хомич Ю.С., Бурмистрова А.Л.,
Самышкина Н.Е., Поспелова А.В., Чернов Ю.И.*
Челябинский государственный университет, Челябинск,
**Московский государственный университет, Москва*

Грибы рода *Candida* являются уникальными микроорганизмами, имеющими огромный диапазон адаптационных возможностей (от сапрофитов до комменсалов и оппортунистов), позволяющих им успешно проживать как в различных анатомических местах организма хозяина, так и во внешней среде. И хотя этим грибам и вызываемым ими инфекциям посвящено большое количество работ, многие вопросы остаются до конца не решенными, например, такой «простой» вопрос, как происхождение источника инфекции при кандидозе. Считается, что большинство штаммов, выступающих в качестве причины заболевания, являются комменсалами самих пациентов. Возникает вопрос, каковы причины и вклад грибов рода *Candida* при переключении от «безобидного» сосуществования до агрессии? И одним из параметров, характеризующих трансформацию биологических свойств грибов рода *Candida* при смене условий существования (внешняя среда/человек), является способность к адгезии на эпителиоциты человека.

В тоже время, возрастающая частота кандидозов, в т.ч. вызванных *Candida non albicans*, может свидетельствовать об импорте инфекции и (или) о замене, в силу каких-то обстоятельств, «добропорядочных» комменсалов на агрессивные («дикие») штаммы.

Целью данного исследования было сравнить природные и клинические изоляты грибов рода *Candida*:

1. по чувствительности к антифунгальным препаратам in vitro;
2. по адгезивной способности в системе «*Candida spp.* – буккальные/вагинальные эпителиоциты» in vitro.

1. Исследуемые культуры. В работе были использованы:

1) культуры грибов рода *Candida*, выделенные из: а) влагалища женщин с различной генитальной патологией (n = 22); б) ротовой полости больных с кандидозом ротовой полости (n = 12); в) окружающей среды (n = 10);

2) штамм *Candida albicans ATCC 10231*.

Все клинические изоляты первоначально идентифицировали с помощью теста на ростовую трубку. *Candida non albicans* виды идентифицировали далее с помощью тест-системы «Auxocolor» (BioRad, Франция). Среди штаммов, выделенных из влагалища, одна культура была идентифицирована как *Candida krusei*, три – *Candida glabrata*; остальные – *Candida albicans*. Оральные изоляты все были представлены видом *C. albicans*. Природные штаммы были любезно предоставлены кафедрой биологии почв факультета почвоведения МГУ. Среди них было восемь коллекционных (три культуры – *Candida guilliermondii*, три – *Candida tropicalis*, одна – *Candida maltosa*, одна – *Rhodotorula rubra*) и две музейные культуры. Музейные культуры были реидентифицированы нами как *Rhodotorula rubra* и *Candida kefyr* («Auxocolor»).

2. Чувствительность к антифунгальным препаратам. Для определения чувствительности грибов использовали коммерческую тест-систему «Fungitest» (BioRad, Франция), включающую следующие препараты:

- Флуконазол в концентрации 8 и 64 мкг/мл,
- Итраконазол 0,5 и 4 мкг/мл,
- Кетоконазол 0,5 и 4 мкг/мл,
- Миконазол 0,5 и 8 мкг/мл,
- Амфотерицин В 2 и 8 мкг/мл,
- 5-флюороцитозин 2 и 32 мкг/мл.

Методику проводили согласно прилагаемой инструкции.

Кроме этого, из тех лунок, где результат был расценен как «чувствителен», для оценки эффекта действия на грибы антифунгального препарата, производили высев 10 мкл содержимого каждой лунки микропланшета на среду Сабуро. Если через 48 часов инкубации при 28°С проявлялся рост грибов, то эффект расценивали как фунгистатический; если роста не было – как фунгицидный.

Результаты. Природные изоляты грибов рода Candida проявили наибольшую чувствительность к антифунгальным препаратам (77,3% чувствительных штаммов) по сравнению с клиническими (59,8%). Максимальную активность в отношении природных и клинических изолятов грибов рода *Candida* продемонстрировали амфотерицин В (100% чувствительных штаммов) и 5-флюороцитозин (100% среди природных по отношению к 77–92% клинических). Природные штаммы, в отличие от клинических изолятов, показали высокую чувствительность кетоконазолу, но оказались устойчивыми по отношению к миконазолу в концентрации 0,5 мкг/мл (при концентрации 8 мкг/мл показали 100% чувствительность). Обращает внимание низкая чувствительность клинических изолятов к флуконазолу при обеих концентрациях. Для всех антимикотиков было отмечено, что если при минимальной концентрации препарат оказывал фунгистатическое действие, то при увеличении концентрации – эффект становился фунгицидным.

Штамм *C.albicans ATCC 10231* продемонстрировал 100% чувствительность ко всем антимикотикам, входящим в набор «Fungitest».

Вывод. Природные изоляты проявили более высокую чувствительность к антифунгальным препаратам, чем клинические, что, возможно, является отражением общей тенденции роста числа резистентных к антифунгальным препаратам клинических штаммов грибов рода *Candida*.

3. Адгезия к эпителиальным клеткам здорового человека in vitro. Для изучения адгезивной способности грибов было выбрано две модели: буккаль-

ный и вагинальный эпителий. Известно, что успешность адгезии (с последующей колонизацией слизистых поверхностей человека) зависит от координированной регуляции большого количества генов и тестирования множества окружающих параметров, включая физиологические, экологической ниши заселения. Исходя из сказанного, адгезия проводилась с созданием следующих условий: температура 37°С, контактный эпителий из ротовой и вагинальной полости здоровых лиц, pH культуральной среды соответствовал физиологическим показателям той экологической ниши, из которой был получен эпителий (адгезию к вагинальному эпителию для всех штаммов проводили при pH 4,0-4,5; к буккальному – при pH 7,0).

Адгезивная способность всех изученных культур грибов рода *Candida* оценивалась на буккальном эпителии. У части культур (17 вагинальных, 7 оральных и 5 природных) адгезия оценивалась одновременно на буккальном и вагинальном эпителии.

С целью определения *индекса адгезии (ИА)* смешивали равные объемы эпителия и грибов при соотношении клеток 1:100 соответственно. Пробирки встряхивали в ротаторе 1 час при 37°С, 70 об/мин. Затем готовили мазок, который окрашивали метиленовой синью. Подсчитывали индекс адгезии – среднее количество адгезированных грибов в пересчете на один эпителиоцит. Определение *индекса прочности адгезии (ИПА)* проводили следующим образом – эпителиоциты с прикрепившимися кандидами наслаивали на фиколл-верографин (плотность 1,077 г/см^3) и центрифугировали при 1000 об/мин 10 минут. Из клеточного осадка делали мазок и подсчитывали индекс прочности адгезии (количество кандид в пересчете на один эпителиоцит, оставшихся адгезированными после прохождения через фиколл-верографин). *Процент прочноадгезированных кандид* по отношению ко всем прикрепившимся определяли по формуле: ИПА/ ИА × 100%.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, используя критерий Стьюдента.

Результаты. Сравнение индексов адгезии оральных, вагинальных и природных изолятов грибов рода *Candida* к буккальному эпителию (таблица 1) показало наличие достоверно более низкого показателя у природных изолятов по отношению к клиническим штаммам ($p<0,01$). В то же время, отношение индекса прочности адгезии к индексу адгезии было достоверно выше среди природных изолятов по сравнению с оральными и вагинальными ($p<0,05$).

Штамм *C.albicans ATCC 10231* и природные изоляты имели практически равный индекс адгезии (3,9 и 3,8 соответственно) к буккальному эпителию, но количество прочноадгезированных кандид по отношению ко всем адгезированным клеткам у АТСС штамма было в два раза ниже (25,6% и 50,8% соответственно).

Сравнение индексов адгезии к вагинальному эпителию показало наличие более высокого показателя у вагинальных изолятов в сравнении с оральными ($p<0,02$) и природными. В то же время, прочность крепления к вагинальному эпителию изолятов из разных экологических ниш достоверно не различалась.

Вывод. Сравнительный анализ адгезивной способности клинических и природных изолятов грибов рода *Candida* к эпителиальным клеткам различных экологических ниш тела человека (к буккальным и вагинальным) показал, что оральные изоляты демонстрируют достоверно выраженную сайт-специфическую адгезию к буккальному эпителию ($p<0,05$); вагинальные изоляты имеют практически равный индекс адгезии к буккальному и вагинальному эпителию, а природные штаммы – пониженные индексы адгезии к человеческому эпителию в сравнении с клиническими изолятами. Кроме того, у природных изолятов процент прочноадгезированных кандид ассоциировался с типом эпителия, используемым в реакции: был выше для буккального и ниже для вагинального эпителия в сравнении с клиническими изолятами.

4. Обсуждение результатов исследования. Проведенные исследования показали наличие фенотипических вариаций грибов рода *Candida* в контексте источника изоляции и позволили высказать несколько соображений.

1. Способность вагинальных изолятов *Candida albicans* одинаково успешно осуществлять адгезию к клеткам вагинального и орального эпителия (одинаковые индексы адгезии и индексы прочности адгезии) позволяет предположить, что вагинально-оральный путь передачи штаммов рода *Candida* в родах новорожденному является эволюционно-отраженным физиологическим путем создания нормобиоты ротовой полости, но может стать путем патофизиологическим (т.е. путем развития орального кандидоза у новорожденных) в условиях клинически выраженного вульвовагинального кандидоза у матери.

2. Хорошо выраженная сайт-специфическая адгезия оральных изолятов *Candida albicans* к буккальному эпителию может свидетельствовать об успешном импорте оральной кандидозной инфекции в госпитальных условиях (через предметы личного пользования: ложка, стакан и т.д.), особенно когда речь идет о заселении ротовой полости новорожденного или грудного младенца.

3. Можно предположить, что существенный процент заболеваний (и оральных, и вагинальных кандидозов) может быть связан с частыми орально-генитальными контактами, а источником кандид могут служить как ротовая, так и вагинальная (более вероятно) полости сексуальных партнеров.

4. В связи с тем, что природные штаммы демонстрируют высокую прочность крепления к буккальному эпителию, можно высказать предположение, что при наличии определенных условий природные изоляты имеют шанс стать успешными оральными комменсалами.

Таблица 1. Сравнение адгезивной способности природных и клинических изолятов грибов рода *Candida* к буккальному и вагинальному эпителию

Характер изолятов	Буккальный эпителий			Вагинальный эпителий		
	ИА	ИПА	% прочноадгезированных кандид	ИА	ИПА	% прочноадгезированных кандид
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1. Вагинальные изоляты	6,6±0,8	2,1±0,4	29,0±3,3	7,1±0,6***	3,0±0,6	39,3±5,7
2. Оральные изоляты	7,7±1,6****	2,8±0,7	34,1±3,8	4,4±0,9	2,0±0,5	44,6±4,4
3. Природные изоляты	3,8±0,6*	1,8±0,4	50,8±8,5**	5,0±1,2	1,5±0,4	31,0±3,6

Примечание:* p<0,01 по отношению к 1.1. и 1.2.
** p<0,05 по отношению к 1.3. и 2.3.
*** p<0,02 по отношению к 2.4. и 3.4.
**** p<0,05 по отношению к 2.4.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СПОРТА НА ВЕСТИБУЛЯРНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ

Чинкин А.С., Хуснуллина Р.И.
Камский государственный институт физической культуры, Набережные Челны

Вестибулярный анализатор формируется и развивается одним из первых и в дальнейшем оказывает влияние на развитие других анализаторных систем. В этой отношении понятен большой интерес, вызываемый у исследователей вопрос о состоянии органа равновесия, прежде всего, в деятельности, требующей высокой координации движений. Полагают, что различные виды спорта влияют на вестибулярную функцию, придавая ей специфический отпечаток.

Для выявления особенностей вестибулярного анализатора нами было обследовано 123 человека, из них 80 спортсменов, представляющие хоккей и прыжки с трамплина, различной квалификации: от III разряда до мастера спорта, со спортивным стажем не менее 3 лет. В качестве контрольной группы обследовано 43 мальчика и юноши. Все обследованные были разделены на 3 группы в зависимости от возраста: I группа – 11 лет; II группа – 14 лет; III группа – 17 лет. Исследование проводилось в 2 этапа: в подготовительном и соревновательном периодах тренировочного цикла.

При изучении чувствительности вестибулярного аппарата исследовались сенсорные, соматические и вегетативные рефлексы до и после вращения. Моделью раздражения вестибулярного аппарата мы применили пробу В. И. Воячека - отолитовую реакцию с использованием кресла Барани.

Данные исследования показывают, что:

1) раздражение органа равновесия вызывает более выраженные вестибуловегетативные реакции у исследуемых контрольных групп. Однако с возрастом число вестибулоустойчивых детей увеличивается, что свидетельствует о возрастании функциональных и резервных возможностей ведущих жизнеобеспечивающих систем и совершенствовании регуляторных механизмов;

2) спортивная деятельность у испытуемых экспериментальных групп ускоряет совершенствование вестибулярного анализатора;

3) систематические занятия видами спорта, богатыми упражнениями с элементами круговых либо прямолинейных ускорений, улучшают координацию движений и дают наилучшие показатели тренированности вегетативной устойчивости. Кроме того, уровень вестибулярной устойчивости имеет прямую зависимость от спортивной квалификации;

4) спортсмены имеют большую устойчивость органов равновесия в соревновательный период, что свидетельствует о зависимости состояния вестибулярного анализатора от периода тренировочного цикла.

ТОПОГРАФИЯ ВНЕОРГАННЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ ГРУДНОЙ КОНЕЧНОСТИ ОВЦЫ

Чумаков В. Ю., Майнагашева С.С., Себякин А.П., Абакшина Е.М.
Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова, Абакан

Внеорганные лимфатические сосуды грудной конечности овцы начинаются из мелкой сети лимфатических капилляров кожи и подкожной клетчатки и представлены следующими пучками: в области кисти – дорсальным, латеральным и средним (вентральным); в области предплечья – медиодорсальным, а в области плеча - дорсолатеральным и срединным глубоким.

Внеорганные лимфатические сосуды грудной конечности.

1. Дорсальный пучок берет свое начало из дорсальной поверхности пясти от второго и третьего пальца. Дренаж лимфы осуществляется 2-3 лимфатическими сосудами, идущими по обе стороны от сухожилия специального сгибателя пальцев, вдоль дорсальной третьей пястной вены. В области верхней половины пясти эти сосуды принимают 1-2 лимфатических сосуда от латеральной группы. Затем данные