

**Раздел II**

**КЛИНИКА И МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ.  
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА.  
НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ**

УДК 616-002.73: 576.8.093.

ЖИДКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКОБАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ЛЕПРОЗНЫХ ПОРАЖЕНИЙ

А.С. БАЙРАМОВА, М.Ю. ЮШИН

ФГБУ «НИИЛ» Минздрава России. 414057, г. Астрахань, пр. Н. Островского 3. e-mail: [niil@astmail.astranet.ru](mailto:niil@astmail.astranet.ru), тел.: 8 (8512) 33-96-33

**Аннотация:** в работе представлены результаты культивирования микобактерий, выделенных из лепрозных поражений на разработанной авторами минимальной жидкой питательной среде. Показано, что предлагаемая авторами питательная среда позволяет обеспечить рост и размножение микобактерий при посеве материала из инфицированных тканей больных лепрой людей и животных с экспериментальной лепрозной инфекцией.

**Ключевые слова:** питательная среда, культивирование, микобактерии, лепрозная инфекция.

THE LIQUID NUTRITIVE MEDIUM FOR CULTIVATION OF MYCOBACTERIA ISOLATED FROM FOCI OF LEPROSY INFECTION

A.S.BAYRAMOVA, M.YU.YUSHIN

Research Institute for the Study of leprosy

**Abstract:** the article deals with the results of Mycobacteria cultivation isolated from the foci of leprosy infection on the base of liquid nutritive medium. It was proved that the proposed nutritive medium may supply the growth and replication of Mycobacteria isolated from infected tissues of leprosy patients and leprosy infected experimental animals.

**Key words:** nutritive medium, cultivation, Mycobacteria, leprosy infection.

Попытки культивирования возбудителя лепры на искусственных питательных средах были начаты с момента открытия М. leprae G.A. Hansen в 1874 году и продолжают по настоящее время [9].

Для культивирования М. leprae были использованы питательные среды самого различного состава, обогащенные животными белками и факторами роста, применялось совместное культивирования с другими микроорганизмами, разнообразные физические и химические воздействия на микобактерии, использовались сосуды для культивирования различной формы и т.п.

Многочисленные неудачные результаты культивирования М. leprae на искусственных питательных средах привели большинство лепрологов, занимающихся данным вопросом, к мысли о неспособности М. leprae существовать вне организма хозяина. Следствием подобных рассуждений стали выводы о необходимости использования тканевых и клеточных культур для выращивания возбудителя лепры in vitro. Однако и в этом направлении успехи были весьма скромными.

Известны и успешные попытки культивирования возбудителя лепры. Тем не менее, до настоящего времени не существует признанного метода культивирования М. leprae in vitro и ни одна из изолированных культур официально не признана возбудителем лепры.

Попытки получения культуры М. leprae изложены в обстоятельных обзорах, касающихся данной проблемы [1,2,3,4,10].

Chakrabarty A.N. и соавт. предположили, что М. leprae относятся к хемоаутотрофам и кардинально изменили вектор поиска сред: стали выращивать возбудителя лепры не на сложных, обогащенных животными белками и факторами роста, а на минимальных питательных средах [8].

Данный подход, с использованием для культивирования М. leprae минимальных питательных сред, по нашему мнению, является перспективным, поскольку мы рассматриваем лепру как сапрозооноз и, следовательно, считаем, что естественной средой обитания возбудителя лепры может быть не только организм человека или животных, но и объекты окружающей среды, в частности почва [6,7,13]. В связи вышесказанным нами была разработана минимальная жидкая питательная среда для культивирования микобактерий, выделенных из инфицированных тканей больных лепрой людей и животных с экспериментальной лепрозной инфекцией [5].

**Цель исследования** – сравнительное изучение роста микобактерий, выделенных из лепрозных поражений, на разработанной нами и известных жидких питательных средах

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования служили М. leprae, выделенные непосредственно из инфицированных тканей больного лепрой (2 образца) и из тканей мышей линии СВА, зараженных по методу Shepard C.C. [11] интраплантарно М. leprae, первично выделенными от больных лепрой людей (10 образцов). Таким образом, использовали 12 штаммов микобактерий от 7 больных лепрой. Данные о больных и концентрации микобактерий в суспензиях приведены в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика материала

п/№	№ суспензии	Ф.И.О. больного	№ и.б.	Диагноз	№ пассажа	Посевная доза
1	M-1*	Москов В.М.	3894	BL	-	2,2x10 <sup>6</sup>
2	M-2**	Москов В.М.	3894	BL	-	4,2x10 <sup>6</sup>
3	1141	Курбанбоев Т.С.	3893	LL <sub>S</sub>	I	1,0x10 <sup>7</sup>
4	1146	Круглов В.А.	3863	LL <sub>S</sub>	IX	2,4x10 <sup>7</sup>
5	1151	Карлунина А.П.	3541	BL	III	1,5x10 <sup>8</sup>
6	1156	Круглов В.А.	3863	LL <sub>S</sub>	IX	2,4x10 <sup>8</sup>
7	1159	Бабушкин А.И.	3865	LL <sub>S</sub>	IX	2,1x10 <sup>7</sup>
8	1163	Мутаева М.С.	3120	LL <sub>P</sub>	VII	3,1x10 <sup>8</sup>
9	1168	Мутаева М.С.	3120	LL <sub>P</sub>	VIII	3,4x10 <sup>7</sup>
10	1171	Мутаева М.С.	3120	LL <sub>P</sub>	VIII	5,4x10 <sup>7</sup>
11	1174	Карлунина А.П.	3541	BL	IV	3,0x10 <sup>7</sup>
12	1281	Кукалова З.	2219	LL <sub>S</sub>	III	1,3x10 <sup>8</sup>

Примечание: \* – лепрома с левого предплечья;  
\*\* – лепрома с правого плеча

Для посева взвесь микобактерий получали из тканевых биопатов, предварительно обработанных 5% раствором серной кислоты. Биопсированную ткань больного и лапы мышей измельчали ножницами и гомогенизировали. Гомогенат центрифугировали при 1000 об/мин (250g) в течение 3 минут. Надосадочную жидкость собирали и подсчитывали в ней количество микобактерий по методу Shepard C.C., McRae D.H. [12].

Посевы осуществляли градуированной пипеткой в объеме 0,1 мл надосадочной жидкости на жидкие питательные среды,

разлитые по 5 мл в пробирки. Посевная доза составляла от  $1 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$  микробных клеток. Для культивирования использовали следующие питательные среды: Школьниковой, Сотона, – в качестве контроля и авторскую жидкую питательную среду – А-2.

Авторскую питательную среду готовили следующим образом. Солевую композицию, глицерин, хлорид натрия, растворяли в дистиллированной воде и стерилизовали в паровом стерилизаторе при  $120^\circ \text{C}$  в течение 20 минут. К 98 мл стерильной среды добавляли 2 г кристаллической мочевины, перемешивали, разливали по 5 мл среды в пробирки и стерилизовали при  $112^\circ \text{C}$  в течение 15 минут [5].

Посевы микобактерий до появления видимого роста выдерживали в термостате при температуре  $30^\circ \text{C}$ , т.к. предварительная серия опытов по культивированию образцов при  $25^\circ$ ,  $37^\circ$  и  $30^\circ \text{C}$  выявила, что оптимальная скорость роста микобактерий соответствует  $30^\circ \text{C}$ .

Таблица 2

Оценка высеваемости микобактерий на различных жидких питательных средах

Питательные среды	Кол-во штаммов	Кол-во выросших культур	Высеваемость %
Среда А-2	12	12	100
Среда Школьниковой	12	3	25
Среда Сотона	12	1	8,33

Из табл. 2 видно, что наилучшие результаты высеваемости на жидких питательных средах были получены при использовании авторской среды А-2 (100%). Во всех случаях, независимо от использованной среды, микобактерии давали придонный рост в виде рыхлого осадка без диффузного помутнения среды. Такой характер роста связывают с микроаэрофильностью микроба. При микроскопии мазков выделенных культур, окрашенных по методу Циля-Нельсена, обнаруживали мелкие кислотоустойчивые палочки и зерна. При окраске мазков аураминем и родамином регистрировали характерное для микобактерий золотисто-желтое свечение палочек и зерен в ультрафиолетовых лучах.

Как показали наши наблюдения, посевная доза микобактерий не оказывала существенного влияния на способность микобактерий к росту, т.е. рост обнаружен как при посевной дозе  $1,0 \times 10^4$ , так и  $1,0 \times 10^8$  кислотоустойчивых микобактерий на 1 лм суспензии.

Таким образом, разработанная авторами минимальная жидкая питательная среда позволяет выделить микобактерии непосредственно из инфицированных тканей больных лепрой людей и животных с экспериментальной лепрозной инфекцией. Высеваемость микобактерий из лепрозных поражений при использовании предлагаемой среды значительно превышает такую при использовании питательных сред, применяемых для культивирования микобактерий – Школьниковой и Сотона.

С целью выделения возбудителя из «лепрозных» источников в аксеническую культуру при первичном посеве материала и

выделения изолированных колоний нами планируется разработать плотную питательную среду.

**Выводы:**

1. Предложенная нами жидкая питательная среда позволяет обеспечить рост и размножение микобактерий при посеве материала из инфицированных тканей больных лепрой людей и животных с экспериментальной лепрозной инфекцией, а так же высокую частоту высеваемости.
2. Рост на жидких питательных средах визуально обнаруживали в виде хлопьевидного осадка, что может свидетельствовать о микроаэрофильности полученных культур.
3. Оптимальной температурой культивирования является температура  $30^\circ \text{C}$ .
4. Высеваемость микобактерий из лепрозных поражений при использовании предлагаемой среды значительно превышает такую при использовании питательных сред, применяемых для культивирования микобактерий – Школьниковой и Сотона.

**Литература**

1. Абдиров, Ч.А. Вопросы культивирования возбудителя лепры человека и крыс / Ч.А. Абдиров // «Каракалпакия». – Нукус 1968.
2. Колесов, К.А. Сб. науч. Работ Казахского лепрозория / К.А. Колесов. – 1961. – Вып. 1. – С. 195–206.
3. Колесов, К.А. Ученые записки института по изуч. Лепры. / К.А. Колесов, Г.Д. Худадов. – 1968. – №5 (10). – С. 17–22.
4. Маслов, А.К. Клиника, лечение и профилактика лепры / А.К. Маслов // Сб. науч. Трудов. – Астрахань, 1976. – №10 (15). – С. 96–103.
5. Пат. № 2403282 Россия. Жидкая питательная среда для культивирования микобактерий из лепром больных лепрой / М.Ю. Юшин, А.С. Байрамова // Бюл. Изобретения. – 2010. – №31.
6. Юшин, М.Ю. Астраханский медицинский журнал (приложение) 2008. – Т.3. – №3. – С. 326–329.
7. Юшин, М.Ю. Материалы международной науч.-прокт. Конф., посвященной 60-летию института и 85-летию противолепрозной службы России / М.Ю. Юшин. – Астрахань, 2008. – С. 159–162.
8. Chakrabarty, A.N. Acta Leprologica / A.N. Chakrabarty, S.G. Dastidar. – 2002. – Vol. 12. – № 2. – P. 79–84.
9. Hansen, G.A. Norsk Madazin for Laevedivenskaben / G.A. Hansen, 1874. – Vol. 50. – P. 76–79.
10. Pattyn, S.R. Bull. WHO / S.R. Pattyn. – 1973. – Vol. 49. – № 65. – P. 403–410.
11. Shepard, C.C. J. Exp. Med/ C.C. Shepard. – 1960. – V. 36. – P. 445–454.
12. Shepard, C.C. Int. J. Lepr / C.C. Shepard, D.H. McRae. – 1968. – Vol. 36. – P. 78–82.
13. Yushin, M.Yu. 17-th Int. Leprosy Congress: Abstracts – Hyderabad, India / M.Yu. Yushin, 2008. – P. 225–225.

УДК: 616-089.5+615.211-004.051

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ И КОМБИНИРОВАННОЙ АНЕСТЕЗИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕВОФЛЮРАНА

С.З. ТАНАТАРОВ\*, М.И. НЕЙМАРК\*\*, Я.Н. ШОЙХЕТ\*\*

\* Государственный медицинский университет, г. Семей, Республика Казахстан, ул. Абая Кунанбаева, 103, г. Семей, 007140  
 \*\* Алтайский государственный медицинский университет, пр. Ленина, д. 40, г. Барнаул, Алтайский край, 656038

**Аннотация:** осуществлен анализ показателей комбинированной ингаляционно-внутривенной анестезии севофлюраном (в закрытом контуре) и рекофолом и стоимостный анализ. Выявлено повышение исследования эффективности и безопасности комбинированного наркоза с применением севорана и рекофола. Определено значительное снижение потребления ингаляционного анестетика при использовании разработанного подхода, приводящее к снижению общей стоимости наркоза.

**Ключевые слова:** онкохирургия; анестезия; севофлюран; пропофол; стоимостный анализ.

COMPARATIVE CLINICO-ECONOMIC INDICATORS INHALATION AND COMBINED ANESTHESIA WITH SEVOFLURANE

S.Z. TANATAROV, M.I. NEJMARK, J.N. SHOJHET

State Medical University, Semipalatinsk, Republic of Kazakhstan  
 Altai State Medical University, Lenin Avenue

**Abstract:** the analysis of indicators of the combined inhalation-intravenous anesthesia by Sevoflurane (in the closed contour) and Propofol and the cost analysis are carried out. The increase of research of efficiency and safety of the combined narcosis with application of Sevoflurane and Pro-