

## Глава 5

---

# **ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ**

## **НОВЫЕ ЛЕКАРСТВА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ ГРИБОВ**

## ПРИМЕНЕНИЕ БАД «ФЛОРАВИТ Э» НА ОСНОВЕ FUSARIUM SAMBUCINUM В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ГЕМОРРОЯ

**Андреанова Г.В.**

Клиника «Будь здоров»  
Москва

Геморрой является одним из распространенных заболеваний. Зачастую одним из основных причин его развития является нарушение функции кишечника, хронические запоры. В настоящее время наблюдается не только рост заболеваемости геморроем, но и «омоложение» этого заболевания. В связи с этим требуется комплексный подход к лечению данного заболевания.

Основной задачей настоящей работы является исследование эффективности применения БАД «Флоравит Э» для нормализации функции кишечника у больных с геморроем.

БАД «Флоравит Э» представляет собой сбалансированный комплекс субстанций, полученных путем ферментации и экстракции биомассы гриба *Fusarium sambucinum*.

В результате клинических испытаний, проведенных на базе Кафедры инфекционных болезней РМАПО и отделения гастроэнтерологии ФГУ №1 поликлиники УДП РФ, выявлено, что БАД «Флоравит Э» нормализует моторику кишечника, активирует слизиобразование в желудке и кишечнике, способствует восстановлению слизистой и микробиоценоза кишечника, нормализует функцию желчевыделения, является иммуномодулятором.

Исследования проводились с сентября 2006 г по февраль 2007. В клинику обратились 123 пациента, из которых женщин было 76, что составило 61,8%, мужчин было 47, что составило 38,2%.

Для исследования были отобраны пациенты, у которых причиной возникновения геморроя, по всей видимости, явились постоянные хронические запоры.

Основные жалобы, которые предъявляли пациенты были – хронические запоры, вздутие кишечника, зуд и жжение в области ануса, боль во время дефекации, выделение алой крови из ануса после дефекации.

Всем пациентам проводилось пальцевое исследование прямой кишки, аноскопия и ректоскопия. В результате осмотра всем пациентам был установлен диагноз геморрой разной степени. Причем у 32 пациентов диагноз установлен впервые.

Всем пациентам проводилась комплексная стандартная терапия в зависимости от степени заболевания, которая включала в себя: детралекс, крем и свечи «Проктогливенол», свечи с красавкой, метилурацилом, ванночки с отваром трав, комплекс лечебной физкультуры, бифидопрепараты, энтеросорбенты, диета.

14 пациентов были направлены на плановое оперативное лечение.

Всем пациентам для нормализации функции кишечника было предложено применение БАД «Флоравит Э», однако согласились на использование БАД «Флоравит Э» 62 человека.

Остальные пациенты применяли слабительные средства.

С согласия пациента назначался БАД «Флоравит Э» водный и масляный растворы по рекомендованной схеме с минимальным курсом 1 месяц. По желанию курс продлевался от 2 до 4 месяцев.

Таким образом, сформировалось 2 группы пациентов: первая группа 62 человека – пациенты, которые использовали в комплексной терапии БАД «Флоравит Э», и вторая группа 61 человек – контрольная.

Наблюдение за пациентами продолжалось от 2 до 4 месяцев.

Результаты наблюдения приведены в таблице.

Симптомы заболевания	1 группа – применение БАД «Флоравит Э»	2 группа – контрольная
Нормализация стула	У 6 пациентов – на 9 день. У 15 пациентов – в течение 1 месяца. У 38 пациентов – в течение 2 месяцев.	У 12 пациентов – на 16-17 день лечения. У 49 пациентов – при применении слабительных препаратов.
Исчезновение вздутия кишечника	У 13 пациентов на 6 день. У 20 пациентов в течение 17-18 дней. У 29 пациентов в течение 1 месяца.	У 12 пациентов – на 7 день лечения. У 49 пациентов вздутие кишечника периодически возникают.

Из таблицы видно, что у пациентов 1-ой группы восстановление функции кишечника происходило у всех пациентов на более ранних сроках, по сравнению с пациентами 2-ой группы, где у 49 человек стойкой нормализации функции кишечника не наблюдалось вовсе.

Таким образом, введение БАД «Флоравит Э» в комплексную терапию геморроя способствует нормализации функций кишечника, что снижает вероятность рецидивов заболевания и улучшает качество жизни пациентов.

Считаем целесообразным применение БАД «Флоравит Э» в комплексной терапии геморроя.

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИСАХАРИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИЦЕЛИЯ МЕСТНЫХ ШТАММОВ *GANODERMA LUCIDUM*

*Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Смирнов Д.А.<sup>1</sup>,*

*Бисько Н.А.<sup>2</sup>, Филимонова Т.В.<sup>1</sup>, Поединок Н.Л.<sup>2</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск*

*2 Институт ботаники НАН Украины, Украина, Киев*

Для исследований было взято два штамма. Штаммы выделены из плодовых тел гриба, собранных в различных областях Беларуси. Отличаются от контрольного (КНДР) сильной пигментацией мицелия. При глубинном культивировании на глюкозо-пептонной среде и пивным сусле выход биомассы у этих штаммов достигал 10-12 г/л. Эндополисахариды составляли 7,5-9,0%, экзополисахариды – 6,5-7,0 г/л. Сравнительный анализ показал, что местные штаммы близки зарубежным аналогам по содержанию белка, липидов, эндополисахаридов, превосходят их по ферментативной (лигнолитической) активности и синтезу экзополисахаридов.

Белорусские штаммы *G. lucidum* также как и контрольный вариант (штамм №362) секретируют полисахариды, которые слабо растворяются в воде без нагревания. Это особенно касается экзополисахаридов. Так, экзополисахариды обоих штаммов лишь частично растворялись в воде при нагревании, значительно лучше – в щелочах, особенно в 10 % NaOH.

Эндополисахариды, в отличие от экзополисахаридов, при нагревании полностью растворялись в воде и в щелочах, слабых растворах неорганических и органических кислот.

Важной характеристической особенностью полисахаридов является вязкость. Кинематическая вязкость 0,1% растворов эндополисахаридов обоих штаммов незначительно превосходила вязкость воды (0,89 мм<sup>2</sup>/с) и составляла 0,92 и 0,94 мм<sup>2</sup>/с. В то же время показатель вязкости водо- и щелочерастворимых экзополисахаридов превосходил таковой воды: 1,90 и 1,95 мм<sup>2</sup>/с – водорастворимая и 2,10 и 2,25 мм<sup>2</sup>/с – щелочерастворимые фракции.

Водные растворы углеводов, как правило, оптически активны и способны вращать плоскость поляризации света. Удельное вращение плоскости поляризации 0,1% водным раствором эндополисахаридов составило  $[\alpha]_D^{20} + 15,5^\circ$  (штамм 8) и  $+ 20,0^\circ$  (штамм 10). Для водо- и щелочерастворимых фракций экзополисахаридов этот показатель равнялся  $[\alpha]_D^{20} - 30^\circ$  и  $- 35^\circ$  (штаммы 8 и 10) и  $[\alpha]_D^{20} + 20,2^\circ$  и  $25,0^\circ$ .

По данным литературы многие иммуностимулирующие и противоопухолевые полисахариды, получаемые из плодовых тел и мицелия грибов, содержат в своем составе белок (до 10 – 50% по сухому весу). Методом Бредфорда установлено присутствие белка (пептидных остатков) во

фракциях эндополисахаридов в количестве 2,5 и 3,0% (штаммы 8 и 10), водорастворимых экзополисахаридов – 3,9 и 4,2% и щелочерастворимых полисахаридов – 2,0 и 2,5%. В аналогичных фракциях контрольного штамма (№362) содержание белка составляло 1,5% (внутриклеточные полисахариды) и 3,9 и 1,2% (внеклеточные полисахариды). Анализ аминокислотного состава гидролизатов экзо- и эндополисахаридов гриба двух штаммов показал наличие в них 17 аминокислот.

В результате деления растворов экзо- и эндополисахаридов на колонке с ДЭАЕ целлюлозой были получены следующие фракции:

- Водная фракция эндополисахаридов – эндополисахариды, элюируемые с носителя дистиллированной водой.
- Солевая фракция эндополисахаридов – эндополисахариды, элюируемые с носителя 1M NaCl.
- Водная фракция экзополисахаридов – экзополисахариды, элюируемые с носителя дистиллированной водой.
- Солевая фракция экзополисахаридов – экзополисахариды, элюируемые с носителя 1M NaCl.

Во всех случаях преобладала количественно водная фракция.

Гель-хроматография эндополисахарида *G. lucidum* штамм 8 на Toyopearl HW-75 позволила установить, что его молекулярный вес находится в области 2 000 кДа. При нанесении фракции водорастворимых экзополисахаридов был получен один пик вне области деления колонки. Вероятно, молекулярный вес гликана был менее 70 кДа. В результате гель-фильтрации фракции щелочерастворимых экзополисахаридов *G. lucidum* было получено два пика: минорная фракция с молекулярным весом менее 70 кДа и преобладающая фракция с молекулярным весом порядка 2 000 кДа. Близкие молекулярные массы имели полисахариды другого штамма – *G. lucidum* 10: молекулярная масса эндополисахаридов находилась в пределах 1800 кДа, экзополисахаридов – 50 и 1500 кДа. Сравнительный анализ молекулярных масс полисахаридов местных штаммов с таковыми контрольного (№ 362) не показал значительных различий. Изучение мономерного состава эндо- и экзополисахаридов местных штаммов *G. lucidum* показало, что они являются гетерогликанами. Определение конфигурации мономеров, входящих в состав полисахаридов гриба, выявило, что все сахара (как у местных штаммов, так и у контрольного) относятся к D-ряду.

В гидролизатах обеих фракций эндополисахаридов преобладала D глюкоза (более 90%). Преобладающим мономером в экзополисахаридах также оказалась глюкоза. Значимых различий в мономерном составе водной и щелочной фракций не обнаружено. Местные штаммы по мономерному составу полисахаридов близки к контрольному варианту.

ИК-спектры фракций экзо- и эндополисахаридов *G. lucidum* обнаружили большое сходство между собой и характеризовались интенсивными полосами поглощения в области 1100-1000 см<sup>-1</sup>, характерными для класса углеводов в целом. В спектрах поглощения полисахаридов явно наблюда-

ется асимметрия пика в области 3050-3200 см<sup>-1</sup> (NH-водородносвязанный) и наличие пиков в областях 1650 (амид I) и 1550 (амид II), что является подтверждением того, что полисахариды исследуемых грибов содержат белковую часть.

В спектрах водо- и щелочерастворимых фракций экзополисахаридов отмечены полосы 890 и 1370 см<sup>-1</sup>, указывающие на наличие  $\alpha$ -гликозидных связей. Одновременно есть полосы поглощения при 920, 840 и 760 см<sup>-1</sup>, характерные для  $\alpha$ -аномера. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, которые также зафиксировали наличие в водорастворимой фракции экзополисахаридов *G. lucidum* как  $\beta$ - так и  $\alpha$ -гликозидных связей. Как и в случае экзополисахаридов, в обеих фракциях эндополисахаридов присутствуют пики, соответствующие как  $\beta$ -, так и  $\alpha$ -типам гликозидной связи. Для всех фракций экзо- и эндополисахаридов *G. lucidum*  $\beta$ -связь выражена ярче.

Для определения положения гидроксильных групп, соединяющих моносахаридные звенья в молекуле полисахарида, широко применяется дегградация по Смуту. При периодатном окислении и боргидридном восстановлении всех фракций полисахаридов происходило потребление периодата натрия и образовывалась муравьиная кислота. Продуктами мягкого гидролиза восстановленных полисахаридов являлись глицерин и эритрит. Образование глицерина наряду с муравьиной кислотой говорит о присутствии (C1→C6) связей, эритрит указывает на присутствие (C1→C4) связей. Наличие непрогидролизованного остатка указывает на присутствие (C1→C3) связанных моноз, поскольку последние не имеют углеродных атомов, несущих  $\alpha$ -диольные группы и не окисляются периодатом. Жесткий гидролиз остатка обнаружил неокисленные метапериодатом натрия молекулы гексоз, что подтверждает наличие (C1→C3) связей в углеводной цепи полимера. Таким образом, все фракции полисахаридов гриба *G. lucidum* шт. №8 и 10 являются разветвленными структурами. Поскольку не окисляемый периодатом остаток полисахарида преобладает во всех фракциях, можно предположить, что основные цепи гликанов как эндо-, так и экзополисахаридов образованы C1→C3 связанными остатками гексоз. В боковых цепях полисахаридов присутствуют C1→C4 и C1→C6 гликозидные связи между мономерами. Внутриклеточные полисахариды содержат преимущественно C1→C4 связи в боковых цепях молекул гликанов в отличие от внеклеточных, где соотношение C1→C4 и C1→C6 связей приблизительно равно.

*Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-ГФФИУ (проект №Б05К-016).*

## ГЛИКОПРОТЕИНЫ *LENTINUS EDODES*: ФАКТОРЫ ВЛИЯЮЩИЕ НА ИХ ОБРАЗОВАНИЕ

*Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Никитина В.Е.<sup>2</sup>,  
Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Иконникова Н.В.<sup>1</sup>, Смирнов Д.А.<sup>1</sup>, Осадчая О.В.<sup>1</sup>*  
*1 Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск*  
*2 Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,  
Саратов, Россия*

Оптимизированы условия образования гликопротеинов грибом *L. edodes*. Наибольший выход их наблюдается при соотношении С/Н, близком к 20. Оптимальной для накопления биомассы и синтеза экзо- и эндогликопротеинов оказалась температура 23-25°C, исходный рН среды – 4,0-6,0.

Биотехнология выращивания гриба (2 штамма) была различной: глубинное, стационарное и поверхностное культивирование.

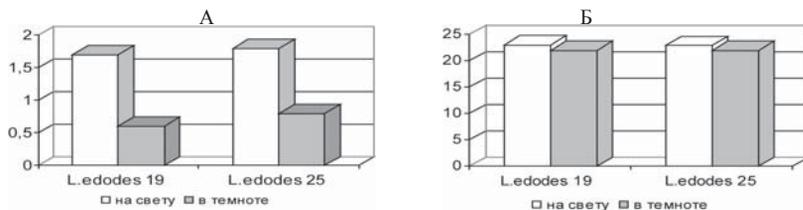
При глубинном культивировании накопление биомассы, экзо- и эндогликопротеинов происходит параллельно, достигая максимума к 8-10 сут. роста культуры. Урожай биомассы составил 13-14 г/л, выход экзогликопротеинов – 3,7-4,5 г/л, эндогликопротеинов – 10-11 %. Отмечено образование грибом до 0,6% темного пигмента, который на основании физико-химических свойств отнесен ориентировочно к высокомолекулярным фенольным соединениям – меланинам.

При выращивании в стационарных условиях (без перемешивания) через 20–30 сут. культивирования образовывалась плотная пленка гриба. По мере длительности выращивания пленка приобретала светло-коричневый цвет. Из пленки выделен пигмент, который также оказался высокомолекулярным фенольным соединением – меланином.

Исследование динамики роста *L. edodes* в стационарных условиях показало, что гриб к концу ферментации накапливает 9,0-10,0 г/л биомассы. Содержание гликопротеинов в биомассе составило 10-14 %. При этом их количество изменялось незначительно на протяжении роста гриба. Поскольку содержание гликопротеинов определяли серно-кислотным методом, есть основания полагать, что в их состав частично вошли и свободные углеводы (глюкоза, трегалоза), входящие в пул запасных питательных веществ. Биомасса также содержала до 1% меланина.

Между синтезом меланинов и эндогликопротеинов как при глубинном, так и стационарном культивировании прослеживалась закономерность: с увеличением в мицелии пигмента росло и количество эндогликопротеинов.

Такая же закономерность прослеживалась и при выращивании гриба поверхностным методом на чашках Петри. Установлено, что наибольшее количество эндогликопротеинов и меланинов синтезируется на свету. И если разница в образовании эндогликопротеинов в зависимости от освещения не столь существенная, то разница в синтезе меланинов достигает 2–3 раза (рис.).

Рисунок. Влияние света на образование меланинов (А) и гликопротеинов (Б) грибом *L.edodes*.

Как при выращивании в стационарных условиях, при культивировании грибов на чашках Петри наблюдались высокие показатели синтеза гликопротеинов. Это возможно связано с тем, что в их состав входят не только внутриклеточные гликопротеины, но и определяемые данным методом легко гидролизуемые серной кислотой углеводы, а также так называемые экзополисахариды, которые образуют внеклеточный футляр, окружающий мицелий.

Проведенные исследования показали, что грибы рода *Lentinus* образуют в мицелии не только гликопротеины, но и высокомолекулярные фенольные соединения – меланины. Наличие именно этих соединений обеспечивает высокую антиоксидантную активность грибов и их гепатопротекторное действие. Кроме этих соединений *L. edodes* синтезирует белки, фенольные соединения, липиды и другие физиологически активные вещества. Наибольшее количество белка и фенольных соединений образуется при глубинном, эндогликопротеинов – при стационарном и поверхностном культивировании. Что же касается липидов, то их количество в мицелии практически не зависело от биотехнологии культивирования, хотя наибольшее содержание ненасыщенных жирных кислот отмечено в липидах, полученных при выращивании гриба поверхностным и стационарным способами. Наибольшее количество меланина (до 1,8%) в биомассе наблюдается также при этих способах культивирования. Большую роль на жирнокислотный состав липидов оказывает и освещение (табл.).

Таблица. Влияние света на жирнокислотный состав липидов

Кислота	L. edodes 19*		L. edodes 25*		L. edodes 19**
	без освещения	с освещением	без освещения	с освещением	с освещением
C14:0	сл.	сл.	0,05	0,10	сл.
C15:0	0,12	0,12	0,39	0,34	0,32
C16:0	6,25	2,87	5,00	4,18	16,50

C16:1	0,24	0,19	2,86	0,66	сл.
C17:0	сл.	-	сл.	сл.	сл.
C18:0	0,36	0,18	0,20	0,31	0,78
C18:1	0,30	0,26	1,45	0,34	8,68
C18:2	92,73	96,38	90,05	94,07	73,72
Σ1 ненасыщенных	93,27	96,83	94,36	95,07	82,40
Σ2 насыщенных	6,73	3,17	5,64	4,93	17,60
Σ1/ Σ2	13,85	30,55	16,73	19,28	4,68
К ненасыщенности	1,86	1,93	1,93	1,95	1,36

\* поверхностное культивирование

\*\* глубинное культивирование

Сумма ненасыщенных жирных кислот в мицелии, выращенном в глубинных условиях, составляет 82,40 %. В липидах, полученных из мицелия обоих грибов, выращенных в поверхностных условиях в темноте – 93,27% и 94,36 %. С освещением эти цифры составляют соответственно 96,83% и 95,07%. Особенно это касается эссенциальной кислоты C18:2. Вместе с тем следует отметить, что поверхностный способ выращивания грибов шиитаке способствует синтезу более полноценных по составу жирных кислот липидов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-РФФИ (проект №Б06Р-059).*

## **ПРОДУКЦИЯ ЛАККАЗ У БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ**

*Белова Н.В., Яковлева Н.С., Псурицева Н.В., Кияшко А.А.  
Ботанический институт им. В.Л.Комарова, Санкт-Петербург*

Лакказы – окислительный фермент, широко распространенный среди дереворазрушающих грибов. Присутствие этого фермента было обнаружено у многих десятков видов базидиомицетов. Благодаря своим каталитическим свойствам и широкой субстратной специфичности лакказы может быть широко использована в деревоперерабатывающем, бумажном и текстильном производствах, а также в медицинских целях при создании тест-систем для обнаружения различных производных фенола в окружающей среде, пищевых продуктах и лекарственных средствах.

Скрининг культур из Коллекции ЛЕ (БИН) позволил обнаружить лакказу активность у более 230 штаммов. Поскольку грибы могут отличаться по своим требованиям к условиям ферментаций, продукция лакказы

была исследована у 35 наиболее активных культур сем. *Strophariaceae* и *Tricholomataceae* (Agaricales), *Crepidotaceae* (Cortinariales), *Lentinellaceae* (Hericiales), *Coriolaceae*, *Lentinaceae*, и *Polyporaceae* (Poriales) и *Steccherinaceae* (Stereales) в процессе роста на жидких средах. Посевной инокулюм выращивали на глюкозо-пептонной среде стационарно в течение 9-12 дней при температуре 26-28°C. Глубинное культивирование грибов проводили в колбах объемом 50-250 мл на круговых качалках, используя следующие среды:

1. Глюкоза – 10.0; пептон – 3.0;  $K_2HPO_4$  – 0.4;  $KH_2PO_4$  – 0.6;  $CaCl_2$  – 0.05;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0.5;  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  – 0.01;  $FeSO_4 \times 7H_2O$  – 0.005 (г/л).

2. Глюкоза – 10.0;  $KH_2PO_4$  – 0.2;  $MgSO_4 \times 7H_2O$  – 0.5;  $CaCl_2 \times 2H_2O$  – 0.1; янтарная кислота – 1.3 (в 20 мл  $H_2O$ );  $FeSO_4 \times 5H_2O$  – 0.11;  $ZnSO_4 \times 7H_2O$  – 0.1;  $MnSO_4 \times H_2O$  – 0.38;  $CoCl_2 \times 6H_2O$  – 0.1;  $CuSO_4 \times 5H_2O$  – 0.01;  $NH_4NO_3$  – 0.04; аспарагин – 0.08; (г/л); витамины – 0.5 мл

3. Декстрозо-картофельная – 24 г/л.

4. 2% Мальц экстракт.

5. Разбавленное пивное сусло – 40 по Баллингу.

Активность лакказы определяли в культуральных жидкостях (в трехкратной повторности) на каждые 5, 7 и 14 сутки роста культур. Измерения активности фермента проводили спектрофотометрически, используя специфический субстрат на лакказу – синингалдазин. Активность фермента была отмечена в процессе роста у 25 штаммов, при этом выявлены их индивидуальные предпочтения к определенным средам для накопления биомассы и продукции лакказы. Высокая лакказная активность была характерна для штаммов *Lenzites betulina*, *Oudemansiella mucida*, *Polyporus squamosus*, *Tubaria sp.* на среде мальц экстракт, но не на глюкозо-минеральной среде. У штаммов *Lentinellus ursinus f. robustus* и *Steccherinum ochraceum* фермент обнаруживали на различных средах, при этом был отмечен слабый рост мицелия. Напротив, хороший рост в погруженной культуре на глюкозо-пептонной среде и значительная активность лакказы обнаружена у штаммов *Trametes gibbosa*. Образование полисахаридов у штаммов *pp. Polyporus* и *Trametes*, при культивировании на глюкозо-пептонной среде, затрудняло измерение активности фермента. У десяти штаммов активность лакказы не была выявлена при росте на всех исследуемых средах, хотя они характеризовались активностью фермента по результатам тестирования. Для дальнейшего исследования биохимических характеристик лакказ отобран ряд штаммов *Steccherinum ochraceum*, *Polyporus squamosus* и *Trametes gibbosa*, характеризующихся значительной активностью искомого фермента.

*Исследования окислительных ферментов базидиомицетов проводились при финансовой поддержке гранта ИНТАС – 03-51-5889.*

## МИКРОМИЦЕТЫ – ПРОДУЦЕНТЫ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

**Бибикова М.В., Грамматикова Н.Э., Спиридонова И.А.,  
Борисова Н.А., Бондарь Т.О., Корыстов Ю.Н.,  
Шапошникова В.В., Катлинский А.В.**

*ФГУП "Государственный научный центр по антибиотикам"  
Московская медицинская академия имени И.М.Сеченова  
Институт биофизики РАН, Пуцино*

В настоящее время во всем мире уделяется большое внимание скринингу фармакологически активных соединений, перспективных для лечения хронических воспалительных заболеваний. К таким процессам все больше относят атеросклероз, ИБС, ревматический артрит и другие болезни. Атеросклероз является основной причиной смертности в высокоразвитых странах. Развитие атеросклероза сопровождается выраженной гиперлипидемией. Большое количество работ посвящено влиянию на сосудистую систему окислительного стресса. В качестве лечебных препаратов используются как противовоспалительные средства, так и препараты нормализующие гомеостаз организма. Широко исследуется влияние антиоксидантов на стабилизацию клинических проявлений атеросклероза и гиперлипидемии.

В связи с тем, что атеросклероз развивается как сложное заболевание, связанное с нарушением многих функций метаболизма, предполагается, что для его терапии могут представлять интерес лекарственные средства с комплексным лечебным эффектом.

Скрининг природных гиполипидемических соединений осуществляли среди микромицетов выделенных из почвенных образцов Тебердинского заповедника.

В работе изучались штаммы грибов, принадлежащих к родам *Tolipocladium*, *Epicoccum*, *Cylindrocarpon*, *Acremonium*, *Beauveria*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Paecilomyces* и др.

Выращивание и поддержание культур проводили на среде Райстрика. Культивирование в жидкой питательной среде (соево-меласной, горохово-крахмальной) для накопления активных метаболитов, осуществляли 7-14 суток в колбах на качалке при 24°C.

Гиполипидемическую активность спиртовых экстрактов из мицелия оценивали по подавлению синтеза холестерина клетками гепатоцитов Hep g2 и по подавлению синтеза эргостерола в грибной культуре *Tolipocladium inflatum* 106. 25 культур (18%), образовывали соединения, снижающие синтез стеролов в модельных опытах на 20-30% без подавления синтеза белка. Суммарные экстракты двух культур изучались в модели *in vivo* в эк-

спериментальной модели гиперхолестеринемии на кроликах. Установлено, что эти экстракты снижали в крови кроликов уровень общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП и повышали уровень ЛПВП. Изучаемые образцы проявили активность в концентрациях 10-100 раз ниже, чем ловастатин, взятый в качестве контроля в стандартной терапевтической дозе.

Одной из причин развития атеросклероза является активация процесса свободнорадикального перекисного окисления липидов.

Антиоксидантные свойства отобранных экстрактов изучали с помощью модельной системы  $Fe^{2+}$ -аскорбат индуцируемого перекисного окисления липидов (ПОЛ) фосфолипидных липосом, полученных из яичных желтков. Анализ накопления продуктов ПОЛ проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Определено, что выбранные образцы, проявившие активность *in vivo*, в концентрации 100-150 мкг/мл подавляли ПОЛ на 70-80%, в то время как  $\alpha$ -токоферол, взятый в качестве контроля, проявляет подобную активность в концентрации 500 мкг/мл.

Наиболее перспективный комплексный экстракт изучали на способность ингибировать активные формы кислорода (АФК) и  $O_2^-$  – в условиях *in vivo* на крысах. Животные были разделены на группы, получавшие ингибитор *NO-синтазы N-nitro-L-argininemethyl ester* (L – NAME), ингибитор липоксигеназ – нордигидрогуаретовую кислоту (НДГК) и контрольную группу. Уровень АФК и  $O_2^-$  – определяли в выделенной аорте, нагруженной дихлорфлуоресцином (ДХФ) с последующей экстракцией дигитонином, по уровню флуоресценции ДХФ. Через трое суток потребления L – NAME уровень образования  $O_2^-$  – аортой крыс увеличивается в 5,7 раз, но исчезает АФК, которые образуются липоксигеназами. В результате образование всех АФК не меняется. Изучаемый экстракт снижает общее образование АФК в опыте и контроле, снижает образование  $O_2^-$  – в опыте до уровня контроля и восстанавливает активность липоксигеназ в опыте. Полученные данные, указывают на высокую антиоксидантную и возможную антиатерогенную активность.

Таким образом, проведенный скрининг позволил отобрать микромицет, продуцирующий соединения с гиполипидемическим и антиоксидантным действием.

## ИЗУЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ МАСЛЯНЫМИ ЭКСТРАКТАМИ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *LENTINUS EDODES* У МЫШЕЙ С ПРИВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ КАРЦИОМЫ

*Богдаев А.Г., Лавлинский А.В., Наквасина М.А.*  
*Воронежский государственный университет*

В настоящее время широко известны иммунологические препараты на основе водорастворимых компонентов гликозидной природы, экстрагируемых из тканей ряда базидиальных грибов (*Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa* и др.). В то же время представляются не менее перспективными исследования экстрактов жирорастворимых веществ, содержащихся в тканях плодовых тел грибов, обладающих иммуномодулирующей активностью.

Проведенные нами исследования были посвящены решению следующих задач:

1. Выявлению частей плодовых тел шиитаке (*Lentinus edodes*), обладающих наибольшей биологической активностью в отношении подопытных мышей.
2. Определению условий проведения масляной экстракции, обеспечивающих максимальную биологическую активность экстракта.
3. Определению направленности биологической активности масляного экстракта свежих плодовых тел шиитаке.

Плодовые тела шиитаке культивировались круглогодично в промышленных условиях. В качестве источника экстрагента служило растительное сырье пищевого назначения.

Сравнение биологической активности различных частей базидиомы шиитаке проводилось путем изучения антирадикальной активности водных экстрактов тканей гриба по изменению уровня люминолзависимой хемилюминесценции в условиях генерации супероксидного анион-радикала и гидроксильного радикала.

Результаты исследования показали наличие существенных отличий по антирадикальной активности не только у морфологически различающихся фрагментов плодовых тел, но также у морфологически однородных тканей, находящихся на разных стадиях развития базидиомы, и у морфологически однородных тканей, отличающихся условиями произрастания плодовых тел.

Опираясь на известные варианты использования плодовых тел шиитаке в профилактических и терапевтических целях, было проведено исследование влияния масляного экстракта шиитаке (МЭШ) на жизнеспособность лабораторных мышей (мышь-самка, гибриды BDF<sub>1</sub>) с привитой опухолью Са 755. Результаты показали, что один из вариантов МЭШ способен успеш-

твенно увеличивать продолжительность жизни подопытных мышей при применении его в дозах 0,06 – 0,15 мл/сутки.

Влияние МЭШ в данном опыте характеризовалось шире и эффективнее, чем только иммуномодулирующее воздействие. Рекогносцировочное исследование влияния МЭШ на синтез цитокина ФНО  $\alpha$  (фактора некроза опухолей  $\alpha$ ) макрофагами мышей линии SHK, которым прививалась асцитная форма карциномы Эрлиха, показало, что МЭШ способен оказывать иммуномодулирующий эффект на фоне роста асцитной карциномы Эрлиха, что проявлялось в увеличении концентрации цитокина в клетках макрофагов на 8,6% по сравнению с контролем.

В настоящее время разработано три варианта проведения масляной экстракции свежих плодовых тел шиитаке, различающихся по степени проявления биологической активности МЭШ.

## **ХАРАКТЕР НАКОПЛЕНИЯ БЕЛКА И БИОМАССЫ ШТАММОМ M-81 HIRSCHIOPORUS LARICINUS (BREF) RUV- ПРОДУЦЕНТОМ ПРОТЕИНАЗ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

*Бойко М.И.*

*Донецкий национальный университет  
Украина*

Проведенные Л.Н. Федоровой (1973) исследования протеолитической активности высших грибов из порядка *Agaricales* в условиях поверхностного и глубинного роста показали, что поверхностные культуры развиваются медленнее (от 25-40 до 60 суток), чем погруженные (10-20 суток). В этой связи нами проведены исследования влияния способов культивирования: поверхностного, глубинного и при периодическом перемешивании инокулюма гриба, произраставшего в жидкой питательной среде, на накопление белка, биомассы и активность протеиназ молокосвертывающего действия в культуральном фильтрате. Культивирование штамма M-81 осуществляли на глюкозо-пептонной среде следующего состава, г/л: глюкоза – 20, пептон – 10,  $MgSO_4$  – 1,1,  $CaCl_2$  -0,13,  $KH_2PO_4$  -0,6,  $K_2HPO_4$  -0,4,  $ZnSO_4$  - 0,001, дистиллированная вода до 1 л.

Установлено, что на 5-е сутки культивирования продуцента количество белка в культуральном фильтрате, при всех способах культивирования, уменьшалось по сравнению с исходной средой, что указывает на утилизацию грибом пептона. Молокосвертывающая активность, в этом случае, обнаружена только при глубинном культивировании (12,8 мин.). Это свидетельствует о том, что штамм M-81 не только использовал пептон для построения своего тела, но и выделял в питательную среду белки

с молокосвертывающей функцией. Начиная с 10-х суток, наблюдалось увеличение количества белка в культуральном фильтрате при глубинном культивировании и периодическом перемешивании среды за исключением поверхностного культивирования гриба. Статистическая обработка данных показала, что погруженные культуры *H. laricinus* выделяли в среду больше белка, чем поверхностные (10-е – 20-е сутки) и больше, чем культуры при периодическом перемешивании (15-е -20-е сутки). Молокосвертывающая активность культурального фильтрата, при глубинном выращивании продуцента, на 10-е сутки составляла 1,86 мин, на 15-е – 0,92 мин и на 20-е -0,67 мин, при поверхностном – на 10-е сутки – 6,61 мин, на 15-е – 4,25 мин, 20-е – 2,42 мин, при периодическом перемешивании на 10-е и 15-е сутки – 3,61 мин и на 20-е сутки -2,19 мин.

Накопление биомассы грибом в зависимости от способа культивирования осуществлялось с различной скоростью. При поверхностном выращивании штамм М-81 *H. laricinus* развивался медленнее, чем при глубинном и при периодическом перемешивании, что согласуется с данными Л.Н. Федоровой (1973) и других исследователей. В двух последних вариантах рост гриба приостанавливался на 15-е сутки и увеличение биомассы прекращалось, чего не наблюдалось при поверхностном способе его выращивания. При поверхностном культивировании продуцента процесс образования биомассы проходил в течение всего опыта (20 суток). Это свидетельствует о том, что при глубинном культивировании и периодическом перемешивании мицелия в среде идет более активное поглощение штаммом М-81 *H. laricinus* питательных веществ, чем при поверхностном выращивании.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что выделение в питательную среду веществ белковой природы, в том числе протеиназ молокосвертывающего действия и накопление биомассы штаммом М-81 *Hirschioporus laricinus* осуществлялось более интенсивно при глубинном культивировании продуцента, чем при поверхностном выращивании и периодическом перемешивании питательной среды. Обнаруженные свойства гриба следует учитывать при культивировании его в биореакторах с целью получения молокосвертывающего ферментного препарата в кристаллическом виде.

## ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ БИОАКТИВНЫХ ЛИПИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ

*Гвоздкова Т.С., Черноок Т.В., Филимонова Т.В.,  
Рожкова З.А., Осадчая О.В., Смирнов Д.А.,  
Щерба В.В., Бабицкая В.Г.*

*Институт микробиологии НАН Беларуси  
Минск*

Липидные препараты, содержащие биоактивные липиды (полиеновые жирные кислоты, фосфолипиды, жирорастворимые витамины и др.), традиционно получают из растений (соевые бобы, подсолнечник, рапс, морковь, тыква и др.), из жира животных и некоторых видов промысловых рыб. В связи с ограниченностью природных источников и отсутствием экологической чистоты, актуальной задачей становится поиск и изучение новых источников липидов и их биоактивных компонентов. И таким источником могут стать микроорганизмы, способные синтезировать липиды и высокоактивные липидные компоненты, причем в достаточно больших количествах, что открыло перспективу их производства и создания нового поколения фармацевтических препаратов на их основе. В качестве потенциальных продуцентов липидов среди микроорганизмов рассматриваются, главным образом, дрожжи и низшие мицелиальные грибы, что связано как с их способностью активно синтезировать липиды (40-60 % от сухих веществ), так и с уникальным составом последних. Однако, несмотря на значительные успехи, достигнутые в этом отношении, использование некоторых низших мицелиальных грибов в биотехнологии имеет и ряд недостатков. Одним из них является потенциально опасный их споровый посевной материал. Кроме того, они в определенных условиях культивирования могут продуцировать микотоксины, являющиеся мутагенами и канцерогенами. Острая же потребность современной фармакологии в высокоактивных и малотоксичных липидсодержащих препаратах диктует необходимость поиска новых источников для их получения. В этом отношении перспективным объектом современной биотехнологии среди мицелиальных грибов могут стать ксилотрофные базидиомицеты, у которых отсутствуют указанные выше недостатки, к тому же многие из них являются съедобными, издавна применяются в народной медицине и признаны лекарственными. Учитывая высокую значимость ряда биологически активных соединений липидной природы, в т.ч. эссенциальных полиеновых жирных кислот, фосфолипидов, жирорастворимых витаминов, стероидных соединений в жизнедеятельности организма

человека и животных, целесообразность проведения исследований по выявлению среди базидиальных грибов наиболее активных продуцентов этих соединений очевидна.

В большинстве работ, начатых еще в 60-ые годы и посвященных изучению липидов базидиомицетов, исследовались, в основном, плодовые тела этих грибов. При этом оказалось, что количество липидов у этой группы грибов сравнительно невелико и в зависимости от видовой принадлежности колеблется от 2 до 5 % от сухих веществ, за редким исключением – до 10 %. Однако, судя по научно-информационной литературе, некоторые представители базидиальных грибов способны накапливать в мицелии до 25 – 50 % липидов.

Имеющиеся сведения о количественном и качественном составе липидной части глубинного мицелия базидиальных грибов, особенно лекарственных, весьма ограничены и не всегда сопоставимы у различных авторов, что может быть связано с применением различных условий культивирования, питательных сред, использованием разных методов экстракции липидов, а также использованием различных штаммов грибов причем, находящихся не в одинаковых фазах развития.

С целью выявления возможности практического использования базидиальных грибов как источников биологически активных соединений липидной природы проведено сравнительное исследование роста и липидсинтезирующей активности 47 штаммов грибов класса *Basidiomycetes*, относящихся к 20 родам и 25 видам порядков *Polyporales* (*p.p. Ganoderma, Lentinus, Trametes, Laetiporus*), *Agaricales* (*p.p. Pleurotus, Shizophyllum, Crinipellis*) и *Russulales* (*p.p. Hericium, Stereum*) из коллекции лаборатории экспериментальной микологии Института микробиологии НАН Беларуси.

Грибы выращивали в условиях глубинного культивирования на стандартной глюкозо-пептонной среде до фазы замедления роста культуры, когда концентрация биомассы приближалась к максимальным значениям. С целью стимуляции образования липидов в питательную среду вносили повышенное содержание глюкозы (30 г/л).

Проверенные штаммы грибов показали довольно широкую амплитуду колебаний как по выходу биомассы (от 2,0 до 16,0 г/л), так и по содержанию в мицелии общих липидов (от 3,0 до 30,0 % от АСБ). При этом было отмечено, что способность к активному росту и синтезу липидов различна у представителей одного и того же рода и даже у штаммов одного вида. Уровень биомассы и содержание общих липидов в мицелии исследуемых штаммов грибов представителей порядка *Polyporales* рода *Ganoderma* колебался в пределах 4,4 – 9,5 г/л и 4,7 – 8,2 % от абсолютно сухой биомассы, рода *Lentinus* – в пределах 4,5-11,5 г/л и 3,9 – 9,7 % от АСБ, рода *Trametes* – в пределах 6,9-13,0 г/л и 3,8-8,7 % от АСБ, рода *Laetiporus* – в пределах 5,7 – 10,2 г/л и 9,3 – 30,2 % от АСБ соответственно.

Исследуемые грибы порядка *Agaricales*, родов *Pleurotus, Shizophyllum* и *Crinipellis* имели достаточно высокий выход биомассы (12 -14 г/л), но ха-

рактизовались низкой способностью к синтезу общих липидов (не более 3,0- 4,5 % от АСБ). По сравнению с представителями порядка *Agaricales* содержание общих липидов в мицелии грибов порядка *Russulales* (*p.p. Hericium* и *Stereum*) достигало 6,0 % от АСБ, а выход биомассы – 6,0-8,7 г/л.

Поскольку биологическая ценность липидов определяется их составом, скрининг продуцентов велся с учетом содержания в них наиболее ценных в биологическом отношении компонентов – фосфолипидов, эргостерина и полиненасыщенных жирных кислот.

Исследование состава общих липидов мицелия грибов показало, что в зависимости от родовой, а также внутривидовой принадлежности грибов содержание вышеуказанных соединений в липидах отличалось значительной вариабельностью. Удельный вес фосфолипидов в составе общих липидов разных таксономических групп грибов колебался от 13 до 60 % и выше, а эргостерина – от 4,7 до 18 %. Содержание же фосфолипидов и эргостерина в самой мицелии исследованных грибов находилось в пределах 0,7-5,4 % от АСБ и 0,3-1,6 % от АСБ соответственно. Наиболее высоким синтезом фосфолипидов (свыше 3-5 % от АСБ) характеризовались отдельные представители порядка *Polyporales* – *Ganoderma lucidum*, *Lentinus lepideus*, *Laetiporus sulphureus*, *Trametes pulverulentum*. Максимальная эргостерин-синтезирующая активность присуща отдельным представителям грибов родов *Ganoderma*, *Lentinus*, *Laetiporus* (свыше 1,5 % от АСБ).

Пищевая и фармакологическая ценность липидов определяется также содержанием и сбалансированностью в них незаменимых полиненасыщенных жирных кислот. Исследование состава жирных кислот липидов у проверяемых базидиальных грибов показало, что они практически не содержат соединений с нечетным числом атомов углерода, а также разветвленных жирных кислот. Эти свойства выгодно отличают липиды базидиальных грибов от бактериальных, дрожжевых и некоторых продуцентов липидов низших мицелиальных грибов. Установлено, что качественный состав жирных кислот общих липидов исследованных грибов сходен. В липидах мицелия проверенных культур присутствуют в основном жирные кислоты с длиной цепи от 14 до 18 атомов углерода, 60–80 % от суммы жирных кислот составляют ненасыщенные жирные кислоты. Общая сумма ненасыщенных жирных кислот в составе общих липидов исследованных базидиомицетов в 2-4 раза превышает сумму насыщенных. Характерной особенностью состава жирных кислот общих липидов большинства исследованных базидиальных грибов явилось сверхвысокое содержание линолевой кислоты (C18:2) – 55–70 % от суммы кислот и выше, т.е. синтез жирных кислот идет по пути преимущественного образования эссенциальной линолевой кислоты. Повышенной способностью к синтезу линолевой кислоты (свыше 70 %) отличались штаммы грибов *G. lucidum*, *L. edodes*, *L. sulphureus* и *Abortiporus biennis*. Относительное содержание олеиновой кислоты (C18:1) в составе общих липидов грибов достигало 7-21 %. Из насыщенных жирных кислот у всех исследованных культур в составе липидов преобладала пальмити-

новая кислота (С16:0), удельный вес которой колебался в пределах 7-23,5% от суммы кислот. Что касается других жирных кислот в составе липидов грибов, то они содержались в незначительных количествах. Их доля не превышала 1–5 % от суммы жирных кислот.

Таким образом, поскольку количество синтезируемых липидов у исследованных базидиальных грибов уступает таковому микромицетов, рассматривать их в качестве потенциальных продуцентов не совсем целесообразно. Тем не менее, отдельные представители базидиальных грибов, особенно лекарственные, представляют большой интерес для получения биомассы, обогащенной биоактивными липидами. Кроме того, отдельные представители базидиальных грибов могут использоваться как потенциальные продуценты фармацевтически важных липидных компонентов (фосфолипиды, полиеновые жирные кислоты, жирорастворимые витамины, стероидные соединения гормоноподобного действия и др.), которыми богат мицелий этих грибов и которые могут найти самостоятельное применение в различных отраслях народного хозяйства: пищевой, фармацевтической промышленности, медицине, косметологии и др.

## **«ФЛОРАВИТ Э» – ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, КАК РЕГУЛЯТОРА РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ЧЕЛОВЕКА.**

*Григораш А.И., Лоенко Н.Н., Зайкина М.Ю., Буякова И.В.*

*ООО «Гелла-Фарма»*

*ГНУ НИИПЗК*

*ФГУ УДП РФ*

*Москва*

Решение демографической проблемы предполагает не только снижение смертности, но и увеличение рождаемости. С каждым годом увеличивается число бесплодных пар. Причин много: стрессы, несбалансированное питание, экология, и как следствие – ухудшение показателей здоровья населения в целом. К наступлению репродуктивного возраста многие уже страдают несколькими хроническими заболеваниями.

Для оценки БАД «Флоравит Э» (водный экстракт биомассы гриба *Fusarium samsinum*) как перспективного средства воздействия на репродуктивные возможности человека, авторами рассмотрены результаты экспериментальных исследований, полученных при включении «Флоравит Э» в рацион питания биологической модели. В качестве биологической модели были выбраны группы пушных зверей, в частности соболей.

Клинически доказано, что «Флоравит Э» является эффективным иммунорегулятором широкого спектра действия, положительно воздействующим на интерфероногенез, человека, регулирует адекватное созревание лимфо-

цитов, восстанавливает уровень Т-популяции, в первую очередь Т-супрессоров и Т-хелперов. Регулирует активность НК-клеток. БАД «Флоравит Э» обладает отчетливым гепатопротекторным действием, используется в комплексной терапии ЖКТ, печени и др. Восстанавливая качество обменных процессов (жировой, углеводный, белковый, минеральный), «Флоравит Э» расширяет диапазон адаптации организма к неблагоприятным условиям, стрессовым ситуациям, инфекционной агрессии.

Использование ценных пушных зверьков в качестве биологической модели для оценки возможности влияния на репродуктивную функцию организма человека необычно. Однако необходимо учесть, что соболя, как и человек, относится к виду млекопитающих, живородящих, с аналогичными метаболическими процессами. Конечно, течение беременности соболей имеет ряд особенностей, прежде всего наличие длительной латентной стадии беременности после оплодотворения. Латентная стадия длится 7-8 месяцев и далеко не у всех особей заканчивается стадией истинной беременности, которая длится 1-2 месяца.

Исследования проводились ГНУ НИИ ПЗК в 2005-2006 гг. Для эксперимента были сформированы 3 группы животных по 30 самок: 1 группа имела стандартный пищевой рацион, 2 группа, для оценки влияния фактора качества питания и нормализации деятельности ЖКТ, получала пробиотики, 3-ей группе в стандартный корм добавлялся «Флоравит Э» – по 1мл на голову в сутки.

В 2005 г добавление «Флоравит Э» в корм осуществлялось самкам соболей в период, уже наступившей, истинной беременности – период 2 месяца с 30 марта по 8 июня 2005г.

В 2006 г для выявления возможностей влияния «Флоравит Э» на наступление истинной беременности, препарат добавлялся в рацион самцов и самок соболей в период гона и латентного периода беременности – с 1 июля по 1 августа 2006г.

Результаты. Результаты оценивались по трем основным показателям:

1. Количество оценившихся самок –  $C_o$ , %.
2. Среднее число щенков приходящееся на одну оценившуюся самку – плодовитость  $P_o = (\text{всего щенков из группы}) / (\text{число оценившихся самок})$ .
3. Среднее число щенков приходящееся на одну самку в группе  $P_{II} = (\text{всего щенков из группы}) / (\text{число самок в группе})$ .

Результаты влияния БАД «Флоравит Э» на реализацию репродуктивного потенциала при приеме препарата в период истинной беременности отражены в табл.1 и рис.1,2.

Нетрудно видеть, что применение пробиотика не привело к увеличению количества оценившихся самок, в группе, получавших БАД «Флоравит Э», количество оценившихся самок  $C_o$  увеличилось на 4,1%.

Показательно, что та же тенденция наблюдается и при оценке показателей плодовитости. Если в группе, получавшей пробиотик, плодовитость  $P_o$  выросла на 0,06 ед. (на 2,43% по сравнению с контрольной группой). В

то же время, в группе самок, получавших БАД «Флоравит Э» наблюдается рост По на 0,34 ед. на оценившуюся самку (или на 13,76% по сравнению с контрольной группой).

Таблица 1. Эксперимент 2005 г. Самки соболя (покрыто 100%).

Показатели	Группы		
	Контроль	Пробиотик	«Флоравит Э» водный раствор
оценилось %	62,5	62,5	66,6
плодовитость	2,47	2,53	2,81
в среднем щенков на одну самку	1,08	1,21	1,58

Если оценивать показатели прироста в целом по каждой из групп, то и здесь наблюдаются аналогичные результаты. При применении пробиотика среднее количество щенков на каждую самку Пп выросло всего на 0,13 штуки (на 12% по сравнению с контрольной группой), а в группе, получавшей «Флоравит Э» прирост Пп был выше и составил 0,5 щенка на каждую самку стада (или на 46,3% по сравнению с контрольной группой).

Таким образом, применение пробиотиков оказывает некоторое положительное действие на течение беременности.

Что касается влияния БАД «Флоравит Э», то повышая адаптивные возможности организма и обладая широким спектром действия, последний оказывает более выраженный положительный эффект на течение беременности, позволяя организму животного успешно справиться с возросшими нагрузками.

Интересные результаты получены при введении БАД «Флоравит Э» в рацион соболей в период гона и латентной беременности. Результаты исследований отражены в таб. 2 и рис. 3 и 4.

Таблица 2. 2006 г. Самки соболя (покрыто 100%)

показатели	группы		
	контроль	пробиотик	"Флоравит Э" водный раствор
оценилось %	48,1	51,8	92,5
плодовитость	3,69	3,43	3,32
в среднем щенков на одну самку	1,56	1,67	2,48

Из таблицы видно, что в группе самок, получавших пробиотик, рост числа оценившихся  $C_0$  составил 3,7% по сравнению с контрольной группой. В то же время в группе, получавших БАД «Флоравит Э», на этапе гона и

латентной беременности, число оценившихся самок, после состоявшейся стадии истинной беременности, превысило на 44,4% число оценившихся самок контрольной группы, и составило 92,5% от 100% покрытых самок.

Относительное уменьшение плодовитости По как в группе, получавших пробиотик (на 7% по сравнению с контрольной группой), так и в группе самок, получавших БАД «Флоравит Э» (на 10% по сравнению с контрольной группой), рис 4, связано с вовлечением в процесс шенения изначально ослабленных особей, у которых, возможно, без «Флоравит Э» и пробиотиков вообще бы не наступила истинная беременность.

При этом важно отметить общий рост среднего показателя плодовитости  $\Pi_n$ . Если в группе соболей, получавших пробиотик, рост  $\Pi_n$  составил 0,11 щенка на каждую самку (на 7% по сравнению с контрольной группой), то в группе, получавшей БАД «Флоравит Э» наблюдается значительное увеличение  $\Pi_n$ , на 0,92 щенка на каждую самку (или на 59% по сравнению с контрольной группой), что объясняется значительно большим количеством самок с наступившей стадией истинной беременности.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что добавления БАД «Флоравит Э» или пробиотиков в пищу соболей, во время гона и латентной беременности, положительно сказывается на реализацию репродуктивного потенциала стада.

Не трудно заметить, что БАД «Флоравит Э» оказывает существенно более выраженное влияние на обеспечение реализации репродуктивной функции, повышая частоту наступления истинной беременности, что приводит к значительному увеличению показателей популяции пушных зверей.

Что касается «Флоравит Э», полученные результаты не случайны.

В работе Сушковой Л.В. – «Профилактика дискоординации родовой деятельности», Успехи теоретической и клинической медицины, РМАПО, 2001г., Москва, рекомендовано применение БАД «Флоравит Э» за несколько месяцев до планируемой и во время беременности, как средства улучшающего метаболические и энергетические процессы организма матери, уменьшающего воздействие травмирующих факторов на плод во время беременности и родов, и профилаксирующего заболевания новорожденных.

Как известно, в организме у человека так же, как и других млекопитающих, не каждое оплодотворение заканчивается беременностью. Проведенные исследования на биологической модели позволили оценить влияние применения БАД «Флоравит Э» водного раствора, экстракта биомассы гриба *Fusarium sambucinum*, на разных стадиях беременности – возникновения, сохранения и разрешения.

### **Выводы:**

1. Применение грибного препарата БАД «Флоравит Э» имеет важное научно-практическое значение для увеличения поголовья пушных зверей. Для увеличения поголовья пушных зверей целесообразно применение «Флоравит Э» во время гона и на протяжении всего срока беременности.

2. Проведенные исследования, показавшие эффективность БАД «Флоравит Э» в реализации репродуктивной функции биологической модели, перспективны для применения с целью регулирования репродуктивной функции человека.

3. Целесообразно применение «Флоравит Э» семейными парами, планирующими беременность за 2-3 месяца до нее, а также курсами во время беременности и лактации.

## β ГЛЮКАНЫ ГРИБОВ КАК ИММУНОСТИМУЛЯТОРЫ

*Гурина С.В., Ананьева Е.П., Кожемякина Н.В.*

*ГОУ ВПО Санкт-Петербургская  
химико-фармацевтическая академия, кафедра микробиологии*

Препараты и биологические добавки к пище, содержащие компоненты клеток грибов и дрожжей в настоящее время активно применяются в медицинской практике. Они обладают широким спектром биологической активности, являются энтеросорбентами и детоксикаторами, источниками витаминов и незаменимых аминокислот, иммуномодуляторами.

Особый интерес представляют β связанные глюканы, содержащиеся в клеточных стенках грибов, в частности базидиомицетов. Углеводные полимеры подобной структуры обнаружены и в некоторых внеклеточных полисахаридах, в частности, аубазидане, который синтезируется диморфным грибом *Aureobasidium pullulans*. Аубазидан – разветвленный глюкан, основная цепь которого (кор) состоит из β1,3 – связанной глюкозы.

Из мицелия и плодового тела базидиомицета *Pleurotus ostreatus* путем фракционирования горячей водой и гидроксидом натрия были выделены глюканы с преимущественным содержанием β-1,3 связей. Из внеклеточного полисахарида аубазидана был выделен кор методом дегградации по Смиту. Наличие в образцах β-1,3 связей подтверждали методом перйодатного окисления и ИК – спектроскопией.

Иммунобиологическую активность полученных углеводных полимеров изучали по их влиянию на функциональную активность клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), а именно перитонеальных макрофагов мышей. Клетки СМФ являются чувствительной и пластичной моделью для изучения действия фармакологических препаратов. Препараты вводили белым мышам внутривбрюшинно. Перитонеальные макрофаги получали промыванием брюшной полости мышей средой 199 и культивировали в монослое *in vitro* в течение 2-х суток. Действие выделенных полисахаридов оценивали по изменению таких показателей функциональной активности макрофагов как хемотаксис и распластывание на стекле, отражающих начальные стадии фагоцитоза, а также поглотительной способности фаго-

цитов. В качестве объекта фагоцитоза использовали убитые нагреванием клетки дрожжей *Candida albicans*.

В экспериментах установлено, что  $\beta$ 1,3 глюканы вызывали достоверное повышение значений всех показателей по сравнению с контролем (контрольным мышам вводили физ. раствор). Хемотаксическая активность макрофагов возрастала в 2-2,5 раза, активность расплывания на стекле и поглотительная способность фагоцитов увеличилась в 1,5-1,7 раза. Причем, максимальную стимуляцию функций макрофагов наблюдали на 5 сутки после введения гликанов.

Таким образом, исследованные  $\beta$  глюканы, выделенные как из клеток грибов, так и из внеклеточного полисахарида, являются эффективными стимуляторами функциональной активности клеток СМФ – важнейшего компонента иммунной системы, участвующего в развитии реакций специфической и неспецифической защиты организма от чужеродных агентов.

## АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

*Исангалин Ф.Ш.<sup>1</sup>, Лиховидов В.Е.<sup>1</sup>, Володина Л.И.<sup>1</sup>,  
Александрова А.В.<sup>2</sup>, Косарева Н.И.<sup>1</sup>, Быстрова Е.В.<sup>1</sup>, Коробова Н.А.<sup>1</sup>*  
*1 ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и  
биотехнологии», Московская область, п. Оболensk  
2 Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

Поиск штаммов микроорганизмов в качестве продуцентов новых антибиотиков представляет научный и практический интерес в связи с возникновением у многих патогенных микробов резистентности к существующим антибиотикам актиномицетного ряда. Энтомопатогенные грибы как продуценты веществ с антибиотическими свойствами изучены недостаточно. В связи с этим проведена оценка штаммов энтомопатогенных грибов *Deuteromycota* из рабочей коллекции ГНЦПМБ и их метаболитов на антибиотическую активность. В качестве тест-объектов использовали: грамотрицательную бактерию *Erwinia carotovora*, грамположительную бактерию *Staphylococcus aureus* и гриб *Candida albicans*.

Поиск активных штаммов проводили по двухэтапной схеме: штамм вначале культивировали на плотной среде Чапека в течение 10-15 дней до начала спороношения. Из агара вырезали блоки и определяли их активность на тест-объектах. Далее штамм засевали на жидкую питательную среду, содержащую соевую муку и дрожжевой экстракт и культивировали в качалочных колбах в течение 4-6 дней до образования конидий. Культуральную жидкость (КЖ) отделяли от мицелия центрифугированием и определяли активность фугата.

Экстракты получали из фугата КЖ и высушенного мицелия с помощью хлористого метилена. Экстракты высушивали и растворяли в метаноле.

Активность экстрактов определяли методом диффузии в агаре на односуточных культурах тест-объектов в чашках Петри на агаризованной среде: гидролизат рыбной муки для бактерий; Сабуро – для *Candida albicans*. В каждом опыте использовали стандарты антибиотиков: гентамицин – 20 мкг/мл для культур *Erwinia carotovora*, *Staphylococcus aureus*; клотримазол – 1 мкг/мл для культуры *Candida albicans*.

Тестирование проводили тремя способами – с использованием лунок в агаре для фугата КЖ, блочков агара для воздушного мицелия гриба и дисков из фильтровальной бумаги для экстрактов, а также определения МПК (минимальной подавляющей концентрации). Тест культуры *Erwinia carotovora*, *Candida albicans* инкубировали в термостате при 28-30°C, а культуру *Staphylococcus aureus* при 37°C в течение суток. Величину МПК подсчитывали по результатам тестирования на дисках. МПК стандартов составил: гентамицин – 1,0 мкг/мл для *Erwinia carotovora*; гентамицин – 0,01 мкг/мл для *Staphylococcus aureus*; клотримазол – 0,02 мкг/мл для *Candida albicans*.

В результате тестирования более чем 100 штаммов из 40 родов грибов было выявлено 27 штаммов с бактерицидной и/или фунгицидной активностью. В таблице 1 представлены энтомопатогенные грибы с антибиотической активностью, из которых 7 наиболее активных штаммов были использованы для получения экстрактов (таблица 2).

Таблица 1. Антибиотическая активность энтомопатогенных грибов в дозе 0,1 мл. КЖ

№ пп	Род, вид, коллекционный номер грибов	Активность фугата КЖ на тест-объектах, диаметр зоны подавления (мм)		
		<i>Erwinia carotovora</i>	<i>Staphylo- coccus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
1	<i>Tolyposcladium microsporum</i> , F-908	-	10	15
2	<i>Tolyposcladium inflatum</i> , F-739	10	15	15
3	<i>Tolyposcladium cylindrosporum</i> , F-268	-	15	15
4	<i>Tolyposcladium nubicola</i> , F-909	-	35	-
5	<i>Tolyposcladium tundrense</i> , F-907	-	-	20
6	<i>Metarhizium anisopliae</i> , F-231	-	15	-
7	<i>Metarhizium anisopliae</i> , F-737	-	20	10
8	<i>Metarhizium anisopliae</i> , F-748	10	15	-
9	<i>Metarhizium flavoviride</i> , F-912	-	-	15
10	<i>Metarhizium sp.</i> , F-60	-	30	-
11	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> , F-194	-	10	20
12	<i>Conidiobolus coronatus</i> , VL-1482	-	20	-

13	<i>Entomophthora destruens</i> , F-770	10	15	-
14	<i>Beauveria bassiana</i> , F-837	-	20	-
15	<i>Geomyces pannorum</i> , F-35	-	-	25
16	<i>Calcarisporium arbuscula</i> , F-80	-	-	15
17	<i>Polycephalomyces</i> sp., F-239	15	15	10
18	<i>Polycephalomyces</i> sp., F-927	-	15	-
19	<i>Sesquicillium candelabrum</i> , F-114	-	34	13
20	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-496	-	30	-
21	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-852	-	25	-
22	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-856	-	30	-
23	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-738	-	30	-
24	<i>Chaetomium</i> sp., F-944	-	25	15
25	<i>Mariannaea</i> sp., F-939	-	15	-
26	<i>Clonostachys rosea</i> , F-521	-	20	-
27	<i>Evlachovaea</i> sp., F-226	-	20	-
Итого		5	23	12

Таблица 2. Антибиотическая активность экстрактов энтомопатогенных грибов

№	Штаммы грибов	Зона подавления газона (мм) при дозе экстракта 100 мкг/мл	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
1	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-738	45	-
2	<i>Sesquicillium candelabrum</i> , F-114	30	15
3	<i>Simplicillium lamellicola</i> , F-852	30	-
4	<i>Metarhizium anisopliae</i> , F737	30	-
5	<i>Calcarisporium arbuscula</i> , F-80	-	30
6	<i>Cordyceps militaris</i> , F-284	-	15
7	<i>Polycephalomyces</i> sp., F-239	15	12

Данные таблиц 1 и 2 свидетельствуют о наличии среди энтомопатогенных грибов штаммов с высокой антибиотической активностью. Наибольшее число активных штаммов выявлено в родах *Metarhizium*, *Tolurocladium*, *Simplicillium*. Установлено также, что штаммы разных видов одного рода и разные штаммы одного вида обладают различной антибиотической активностью. Активность большинства штаммов носит селективный характер, что является важным признаком для оценки перспектив их использования. Экстракты из биомассы штамма *Simplicillium lamellicola* F-852 обладают высокой активностью в отношении *Staphylococcus aureus*

(МПК = 0, 5 мкг/мл) и будут использованы для получения очищенных веществ и их характеристики.

*Работа поддержана грантом МНТЦ # 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты».*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НА МОДЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ, ИНИЦИИРОВАННОГО ГРИБНОЙ МАРГАНЕЦ ПЕРОКСИДАЗОЙ**

***Капич А.Н., Корнейчик Т.В.***

*Международный государственный экологический  
университет имени А.Д. Сахарова  
Минск  
Беларусь*

Современные биотехнологии на основе грибов находят все более широкое практическое применение в медицине. Разнообразные грибные метаболиты, включая антибиотики, полисахариды и ферменты, уже давно применяются в качестве лекарственных средств. Гораздо меньше известно об использовании грибных метаболитов, получаемых методами современной биотехнологии, в диагностических целях. Наши последние исследования были посвящены разработке экспресс-метода определения антиоксидантной активности (АОА) индивидуальных химических соединений, а также сложных многокомпонентных экстрактов и жидкостей биологического происхождения с использованием грибного фермента марганец пероксидазы.

Как известно, сохранение антиоксидантно-прооксидантного баланса имеет важнейшее значение в нормальной жизнедеятельности организма. 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 перекисного окисления липидов и соответственно снижение антиокислительного потенциала связывают с развитием различных патологических состояний. В нормальных физиологических условиях существует некое динамическое равновесие между выработкой свободных радикалов и их нейтрализацией, а сам антиоксидантно-прооксидантный баланс находится под строгим контролем ферментативных и неферментативных систем клетки. Образование прооксидантов в норме уравновешивается активностью внутри- и внеклеточных антиоксидантов, при этом сам антиоксидантно-прооксидантный баланс может устанавливаться на разных уровнях. В практике часто используется термин антиоксидантный статус организма. Под антиоксидантным статусом организма понимается состояние уровня антиоксидантно-прооксидантного

баланса. Для характеристики антиоксидантного статуса организма используется целый ряд показателей. К таким показателям относятся, например, активность основных ферментов антиоксидантной защиты, содержание отдельных антиоксидантов, общая АОА экстрактов или гомогенатов тканей и биологических жидкостей (например, сыворотки крови), АОА липидов, содержание продуктов перекисного окисления липидов, жирнокислотный состав липидов, соотношение отдельных фракций фосфолипидов и другие показатели. Таким образом, оценка антиоксидантного статуса организма представляется очень сложной задачей, при этом, как видно, показатель общей АОА имеет большое значение. В связи с этим разработка адекватных экспресс-методов определения общей АОА является очень важной задачей. Наличие адекватных методов оценки АОА необходимо также при создании новых синтетических и поиске природных антиоксидантов.

Ранее мы показали, что модельная система на основе перекисного окисления линолевой кислоты, инициированного марганец пероксидазой гриба *Phanerochaete chrysosporium* ME-446, может быть использована для разработки экспресс-метода определения АОА. В такой модельной системе оценка АОА может производиться на основе измерения скорости поглощения кислорода в реакции перекисного окисления линолевой кислоты или периода индукции при внесении тестируемого антиоксиданта или биологической жидкости в реакционную смесь, по сравнению с контролем без антиоксидантов.

В качестве продуцентов марганец пероксидазы могут быть использованы разные штаммы ксилотрофных базидиомицетов, в том числе штаммы гриба *P. chrysosporium*, который является классическим продуцентом лигнинолитических ферментов. Однако для аналитических целей целесообразно использовать стандартные коммерчески доступные препараты. В настоящее время коммерчески доступными являются только ферментные препараты марганец пероксидазы из грибов *Bjerkandera adusta* и *Nematoloma frowardii*, производимые фирмой Jena Bioscience (Германия). В связи с этим целью данной работы было изучение возможности использования ферментного препарата марганец пероксидазы гриба *N. frowardii* для определения АОА, а также оптимизация условий перекисного окисления линолевой кислоты, катализируемого этим ферментом.

Как показали наши исследования, марганец пероксидаза гриба *N. frowardii* способна инициировать перекисное окисление линолевой кислоты в присутствии ионов  $Mn^{2+}$  (1 мМ), даже если в реакционной системе отсутствует перекись водорода. Хелатирующие органические кислоты и буферные растворы, приготовленные на их основе, существенно подавляли перекисное окисление линолевой кислоты, катализируемое грибной марганец пероксидазой. Наиболее высокая скорость окисления линолевой кислоты достигалась при использовании 50 мМ ацетатного буфера (рН=4,5). Добавление марганец пероксидазы в количестве 0,015 ед. на мл реакционной смеси обеспечивало достаточно высокую скорость поглощения кислорода

в реакции (до 100 нмоль/мл мин). В результате проведенных исследований найдены оптимальные условия, обеспечивающие максимальную скорость перекисного окисления линолевой кислоты.

Оптимизированная модель перекисного окисления линолевой кислоты, иницированного марганец пероксидазой гриба *N. frowardii*, была использована для определения АОА некоторых фенольных соединений с известными антиоксидантными свойствами. В частности установлено, что такие классические антиоксиданты, как  $\alpha$ -токоферол и ионол, проявляют высокую АОА на оптимизированной модели. Величина АОА фенольных соединений, измеряемая на данной модели, зависит от количества гидроксильных групп, связанных с ароматическим кольцом, что находится в соответствии с экспериментальными данными, полученными при тестировании эффективности антиоксидантов в других модельных системах. Кроме того, наши исследования показали, что оптимизированный нами метод может быть использован при тестировании АОА разнообразных экстрактов и жидкостей биологического происхождения.

## УГЛЕВОДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ МИЦЕЛИЯ *GANODERMA APPLANATUM* И ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ

*Кожемякина Н.В., Гурина С.В., Ананьева Е.П.*  
ГОУ ВПО Санкт-петербургская химико-фармацевтическая  
академия, кафедра микробиологии

В последние годы достигнуты успехи в изучении гликанов базидиальных грибов, обладающих антиоксидантным, противовирусным, гепатопротективным, противовоспалительным, гиполипидемическим, иммуностимулирующим и противоопухолевым действием. Препараты, созданные на основе полисахаридов базидиальных грибов, характеризуются высоким терапевтическим эффектом и низкой токсичностью.

Из мицелия гриба *Ganoderma applanatum*, выращенного при глубинном культивировании, с помощью водной экстракции были выделены водорастворимая (П I) и водонерастворимая (П II) полисахаридные фракции, содержащие незначительное количество белка и минеральных примесей. Нерастворимая фракция представляла собой глюкан со следовыми количествами маннозы и ксилозы. Растворимая фракция являлась гетерополисахаридом, состоящим из глюкозы и галактозы и незначительных количеств маннозы, ксилозы и рамнозы.

Была изучена противоопухолевая активность гликанов в отношении солидной опухоли Эрлиха у мышей. Противоопухолевый эффект оценивали по проценту торможения и индексу роста опухоли.

Наиболее значительное ингибирующее действие на рост солидной опухоли Эрлиха у мышей проявил гликан П I. Он вызывал статистически

достоверное торможение роста опухоли, начиная с 10 по 21 сутки после перевивки. Гликан П II оказывал менее выраженный противоопухолевый эффект, вызывая статистически достоверное торможение роста опухоли только на 17, 19 и 21 день после перевивки. О выраженности противоопухолевого эффекта гликанов также свидетельствовал индекс роста опухоли, являющийся интегральным критерием, отражающим силу и продолжительность терапевтического эффекта. Установлено, что изучаемые гликаны оказывали продолжительное статистически достоверное лечебное противоопухолевое действие. Ежедневные (в течение 5 дней) введения полисахаридов не отразились на общем состоянии мышей, их поведении, потреблении корма и воды, что свидетельствовало о хорошей переносимости препаратов.

Таким образом, наиболее выраженную противоопухолевую активность проявлял водорастворимый полисахарид *G. applanatum* (П I), который вызывал статистически достоверное торможение роста опухоли и обладал наиболее значительным и продолжительным противоопухолевым эффектом. Водонерастворимый гликан (П II) проявлял умеренную противоопухолевую активность.

## ЧАГОВИТ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

*Корсун В.Ф., Корсун Е.В., Дмитрук В.С.*  
*Институт фитотерапии, Москва*  
*Сибирский медицинский университет, Томск*

Значительная распространенность псориаза среди населения, хроническое и нередко тяжелое течение, приводящее к инвалидности, нерешенность ряда вопросов этиологии и патогенеза псориаза заставляет отнести проблему этого дерматоза к наиболее важным медицинским и экономическим проблемам здравоохранения. Ряд авторов отмечают тенденцию в последние годы к увеличению числа больных псориазом. Заболевание недостаточно эффективно лечится, что может быть связано с отсутствием этиологической терапии, так как причина болезни до сих пор остается неизвестной.

В настоящее время существует целый ряд теорий происхождения псориаза. Особое место, на наш взгляд, занимает вирусная теория псориаза. Большой вклад в ее развитие сделали отечественные ученые – Б.М. Ябленик, А.Ф. Ухин, А.Я. Прокопчук, С.И. Довжанский, О.П. Поздняков, В.Ф. Корсун и др. Заслуживает большого внимания и ряд научных публикаций норвежских дерматологов по этому вопросу (О.-J. Jversen et al., 1982).

На основании эпидемиологических, вирусологических, генетических, экспериментальных данных и клинических наблюдений, проведенных В.Ф. Корсуном (1985 – 1995 гг.) на базе Минского государственного медицинского университета и НИИ микробиологии и эпидемиологии МЗ РБ можно со

значительной степени достоверности утверждать, что псориаз относится к медленнопротекающей лимфотропной ретровирусной инфекции.

Для лечения псориаза, улучшения качества жизни больных предложено много методов и препаратов (ПУВА, лазеро-, иглорефлексо-, гормоно-, баро-, магнитотерапия, селективная фитотерапия, ингибиторы фосфодиэстеразы, витамины, ретиноиды, гомеопатические средства, гирудотерапия, цитостатики, многочисленные физио- и бальнеопроцедуры, различные мази и пр.).

Однако отсутствие методов и средств, обеспечивающих длительную ремиссию заболевания, обосновывает использование препаратов природного происхождения с учетом состояния основных регуляторных систем. Одним из научных и практических направлений лечения псориаза является комплексное использование лекарственных растений отечественной флоры в виде фитопрепаратов и разнообразных фитопроцедур (аэрофитотерапия, фитомассаж, фитованны, фитосуггестивная релаксация), продуктов пчеловодства (цветочная пыльца, перга и др.).

Наше внимание в последнее время привлекла чага, или березовый гриб. Государственная Фармакопея XI издания (1989) разрешила к применению высушенные наросты бесплодной формы трутовика косо́го березы бородавчатой – березового гриба (чаги) в виде бефунгина, настойки и крема чаги.

В чаге содержатся водорастворимые хромогены – производные фенольных альдегидов, полифенолов, лектины, оксифенолкарбоновые кислоты и их хиноны, а также гуминоподобная чаговая кислота (до 60%), полисахариды (6–8%), лигнин, клетчатка, стероидные, птериновые соединения, органические и тритерпеновые кислоты, соли кремния, железа, алюминия, кальция, магния, натрия, цинка, меди, марганца и калия.

По данным В.М. Лахтина, В.Ф. Корсуна и соавт. (2004), порошок чаги содержит значительное количество лектинов, обладающих выраженной цитоагглютинирующей и противовисусной активностью (фитолектиновой, рассасывающей агглютинаты и агглютинирующие цветные примеси).

Нами в Институте фитотерапии (Москва) проведена клиническая апробация биологически активной добавки к пище чаговит. Наблюдалось 37 больных в возрасте от 19 до 72 лет. Среди больных было 13 мужчин и 24 женщины. С распространенной формой вульгарного псориаза было 30 больных (в том числе 12 – с псориазическим полиартритом), с ограниченной формой – 7 больных.

Все пациенты ранее лечились в различных дерматологических учреждениях г. Москвы и других регионах, где им назначались поливитаминные, кортикостероидные препараты, ПУВА-терапия (6 больным), разнообразные мазевые препараты и физиотерапевтические процедуры.

При обследовании больных был выявлен ряд сопутствующих заболеваний: заболевания пищеварительного тракта и печени (68%); нервной системы (35%), болезни щитовидной железы (35%). У 12 больных отмечена

рефрактерность к традиционной терапии заболевания при наличии распространенного псориаза с явлениями артропатии и большой длительностью течения (более 10 лет).

Пациентам с распространенным псориазом чаговит назначался как элемент комплексной терапии в дозе 2 капсулы 2 – 3 раза в день за 20 мин до еды в течение 1,5 месяцев. Больным с ограниченной формой псориаза чаговит был рекомендован в качестве монотерапии с одновременным нанесением на очаги индифферентной мази в вечернее время.

Переносимость препарата была хорошей.

В процессе лечения было отмечено, что на фоне приема чаговита уже в первые 7 – 8 дней уменьшались зуд, эритема вокруг высыпаний, прекращалось появление свежих высыпаний, стягивание кожи. Медленнее наступало стихание воспалительных явлений в суставах. В процессе лечения показатель качества жизни у больных псориазом повысился на 24,4%.

Трое пациентов по собственной инициативе чаговит принимали более 4 месяцев на фоне удовлетворительного состояния и практически полного отсутствия дискомфорта со стороны пищеварительного тракта.

Наблюдалась положительная динамика уровня билирубина, активности АЛТ, АСТ, ЩФ, что указывает на нормализующее влияние препарата чаги на функциональное состояние печени у больных псориазом.

#### **Выводы:**

1. Чаговит проявляет выраженные противовоспалительные и гипосенсибилизирующие свойства
2. Чаговит может быть использован в амбулаторной практике дерматолога, фитотерапевта и семейного врача в качестве компонента комплексной терапии псориаза.

## **GANODERMA LUCIDUM КАК ИСТОЧНИК ГЛИКОЦЕРАМИДОВ, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИМИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

*Котлова Е.Р.<sup>1</sup>, Кюхер Т.<sup>2</sup>, Шаварда А.Л.<sup>1</sup>, Псурцева Н.В.<sup>1</sup>,  
Синютина Н.Ф.<sup>3</sup>, Зубарев Р.А.<sup>2</sup>*

*1 Ботанический институт имени В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург*

*2 Упсальский университет, Швеция*

*3 Санкт-Петербургский государственный университет*

Базидиомицет *Ganoderma lucidum* издавна используется в народной и официальной медицине в качестве сырья для получения лекарственных средств, обладающих иммуномодулирующим, гепатопротекторным, противовоспалительным и антимитотическим действием. Данные свойства обусловлены наличием широкого спектра биологически активных соединений,

в том числе определенных полисахаридов, белков, полифенолов и липидов (Феофилова, 2004; Lindequist et al., 2005). Среди последних наиболее выраженным эффектом обладают гликоцерамиды.

Гликоцерамиды принадлежат к классу сфинголипидов, объединяющему порядка тысячи различных соединений. Они состоят из трех основных частей: сфингоидного основания, жирной кислоты и полярной группы. Наиболее консервативной частью молекулы является сфингоидное основание, которое обычно представлено сфингозином либо тремя его производными – сфинганином, фитосфингозином и, в случае мицелиальных грибов, метилсфингаденином. Жирнокислотная часть молекулы гликозилцерамидов, по сравнению с другими липидами, отличается большей насыщенностью и наличием гидроксильной группы в  $\alpha$ -положении. Полярная группа может быть представлена моно-, ди- и полисахаридами, содержащими глюкозу, галактозу, маннозу и глюкозамин.

В результате катаболических превращений гликоцерамидов образуются три типа биологически активных соединений – церамиды, свободные сфингоидные основания и их фосфорилированные производные. Оказывая то или иное воздействие на работу  $Ca^{2+}$  – каналов, активность фосфолипаз C и D, а также ряд других ферментов, связанных с трансдукцией сигнала, они регулируют процессы роста, пролиферации, дифференцировки и смерти клеток. Причем эти соединения являются физиологическими антагонистами. Церамиды и сфингозин ингибируют рост, но индуцируют дифференцировку и апоптоз (Алесенко, 1998). Сфингозин-1-фосфат, напротив, активизирует рост и тормозит старение и дифференцировку клеток (Шпигель и др., 1998).

Полученные за последние годы экспериментальные данные дают основание полагать, что помимо свободных церамидов и сфингоидных оснований, важную роль в регуляции процессов деления и дифференцировки клеток могут играть комплексные гликоцерамиды. Так, например, было установлено, что гликоцерамиды, содержащие метилсфингаденин, ингибируют активность ДНК-полимераз  $\alpha$ -типа (Mizushina et al., 1998), влияют на экспрессию генов, кодирующих 8- и 9-прокаспазы (Leon et al., 2006), а также стимулируют переход некоторых видов патогенных аскомицетов из дрожжевой в мицелиальную стадию (Toledo et al., 2001; Pinto et al., 2002).

Следует особо отметить, что биоэффекторные свойства гликоцерамидов в значительной степени зависят от особенностей их структуры, в том числе количества и конфигурации двойных связей, длины сфингоидной и жирнокислотной цепей. При этом основную роль в проявлении той или иной биологической активности играют функциональные группы, которые напрямую взаимодействуют с клеточными мишенями (Дятловицкая, 1998).

В настоящем исследовании мы попытались проследить, как изменяется молекулярный состав гликоцерамидов по мере роста и развития поверхностной культуры *G. lucidum*. Учитывая, что антимитотическая активность продемонстрирована лишь для определенных молекулярных видов, выделенных из плодовых тел (Mizushina et al., 1998), особое внимание было уделено

следующим вопросам: 1) различию в составе гликоцерамидов вегетативного мицелия и генеративных структур; 2) зависимости состава гликоцерамидов базидиом от способа их получения, в частности, от светового режима.

В работе использован базидиальный гриб *G. lucidum* (LE BIN 1318). Культуры выращивали в чашках Петри на сусло-агаре в термостате при 25°C. В эксперименте использовали 7-, 14- и 28-ми суточный вегетативный мицелий, выращенный в темноте при постоянной температуре, а также 35-ти суточный мицелий с дифференцированными плодовыми телами, полученными по мере роста в темноте либо после выдерживания 14-ти суточной культуры на свету (световой режим 12:12).

Общие липиды экстрагировали смесью хлороформ-метанол (1:2) и далее фракционировали методом адсорбционной колоночной хроматографии. Индивидуальные компоненты ацетонового элюата, содержащего основную часть гликоцерамидов, анализировали с помощью ВЭТСХ в системе растворителей изопропиловый спирт-23% аммиак-этилацетат (15:5:1). Молекулярный состав фракции гликоцерамидов анализировали с помощью электроспрей-ионизационной масс-спектрометрии, используя 7-T LTQ FT масс-спектрометр и LTQ линейную ионную ловушку.

Согласно полученным результатам гликоцерамиды *G. lucidum* были представлены моногексозилцерамидами, содержащими в качестве сфингоидного основания 2-амино-1,3-дигидрокси-9-метил-4,8-октадекадиен либо его эпокси-производное 2-амино-1,3-дигидрокси-4-эпокси-9-метил-8-октадецен, а также жирные кислоты преимущественно C16 и C18 ряда. При этом наличие того или иного сфингоидного основания напрямую зависело от стадии морфогенетического развития культуры. Так, в состав гликоцерамидов молодого активно растущего вегетативного мицелия (7-ми и 14-ти суточного) входила исключительно эпоксидированная форма метилсфингадиенина. На этой стадии роста мицелия фракция гликоцерамидов была представлена двумя молекулярными видами  $[M+Na]^+$  с  $m/z$  766 и 794, содержащими 16:0(OH) и 18:0(OH) жирные кислоты, соответственно. По мере развития культуры уровень эпоксидации сфингоидных оснований снижался. В 28-ми суточном вегетативном мицелии, а также 35-ти суточном мицелии с «темновыми» плодовыми телами помимо вышеназванных молекулярных видов присутствовали  $m/z$  750 и, в следовых количествах,  $m/z$  762 с метилсфингадиенином в качестве сфингоидного основания и 16:0(OH), 18:0 жирными кислотами. Наибольшее молекулярное разнообразие гликоцерамидов было выявлено у 35-ти суточной культуры *G. lucidum* с плодовыми телами, выращенными на свету. В этих условиях содержание биологически активных (не содержащих эпоксидную группу) гликоцерамидов достигало максимального уровня. Доминировали молекулы с  $m/z$  762 и 750, в меньших количествах присутствовали  $m/z$  778 (с 18:0(OH) жирной кислотой). Количество эпокси-форм не превышало 20%.

На основании проведенного исследования можно сделать вывод, что биологическая активность фракции гликоцерамидов *G. lucidum* в значи-

тельной степени зависит от фазы роста и развития культуры. Максимальное накопление этих соединений в сочетании с наибольшей структурной вариабельностью отмечено на стадии формирования базидиом в условиях освещения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 05-04-48385 и 06-04-49043).*

## ЛИПИДЫ И СТЕРИНЫ CLITOCYBE NEBULARIS

**Кукина Т.П., Горбунова И.А., Баяндина И.И.**  
*Новосибирский институт органической химии СО РАН  
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН  
Новосибирск*

Предпринятый нами предварительный скрининг восьми видов базидиальных грибов, произрастающих в Новосибирской области, на содержание полипrenoлов и долихолов, ценных физиологически активных нетоксичных соединений, показал, что наиболее богаты этими компонентами плодовые тела грибов семейства трихоломовых. Для детального изучения спектральных характеристик полипrenoлы выделены из плодовых тел гриба *Clitocybe nebularis*, собранных в сентябре 2006 года в окрестностях Академгородка города Новосибирска. Гриб *Clitocybe nebularis* (Batsch) Quil, известен в России под названием говорушка серая. Семейство *Tricholomataceae*. Порядок *Agaricales*. Класс *Basidiomycetes*. Подстилочный сапротроф. Растет с конца лета до поздней осени (особенно обильно с середины сентября до первой декады октября) в хвойных и смешанных лесах большими группами, образуя кольца и ряды. Хороший съедобный гриб, но имеет своеобразный вкус.

Для выделения полипrenoлов высушенные и измельченные плодовые тела гриба экстрагировали в аппарате Сокслета гексаном, а также метил-трет-бутиловым эфиром. Полипrenoлы обнаружены в гексановом экстракте в виде эфиров и в свободном виде. Экстракция метил-трет-бутиловым эфиром позволяет более полно извлечь стериновые компоненты, тогда как полипrenoлы исчерпывающе извлекаются гексаном. Этерифицированные полипrenoлы представлены соединениями, включающими от 12 до 20 изопреновых звеньев, свободные – от 10 до 14. ВЭЖХ-анализ выявил наличие долихолов в соотношении с полипrenoлами 1:7. В качестве аутентичных образцов использованы полиизопреноиды, из листьев облепихи.

В ходе исследования для удобства хроматографической очистки суммарные экстракты очищены от свободных кислот. Хромато-масс-спектрометрический анализ метилированной фракции свободных кислот показал наличие алифатических кислот с длиной цепи от 15 до 24 атомов углерода, более 92% смеси составляют пальмитиновая (15.2), олеиновая (22.4) и линолевая (55.1) кислоты. Связанные кислоты, выделенные омылением

отмытого от свободных кислот экстракта, содержат те же компоненты с преобладанием олеиновой (47.1), пальмитиновой (13.0) и линолевой (37.8) кислот. В нативном экстракте связанные кислоты присутствуют в основном в виде жиров, в значительно меньшей части этерифицированы эргостерином и его аналогами. Эргостерин, который, согласно литературным данным, может служить провитамином D, присутствует в исследованном сырье преимущественно в свободном виде.

Таким образом, исследованное сырье, помимо пищевой ценности, представляет интерес как источник биологически активных соединений широкого спектра действия.

## **СКРИНИНГ ШТАММОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ НА МОСКИТОЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ**

*Лиховидов В.Е.<sup>1</sup>, Наумов А.Н.<sup>1</sup>, Исангалин Ф.Ш.<sup>1</sup>, Володина Л.И.<sup>1</sup>,  
Александрова А.В.<sup>2</sup>, Косарева Н.И.<sup>1</sup>, Асланян Е.М.<sup>1</sup>, Быстрова Е.В.<sup>1</sup>*

*1 ФГУН «Государственный научный центр прикладной  
микробиологии и биотехнологии»*

*п. Оболенск, Московская область*

*2 Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова*

Кровососущие комары являются переносчиками свыше 150 возбудителей болезней человека и животных. Список трансмиссивных болезней человека и животных, переносимых кровососущими комарами, постоянно увеличивается по мере появления новых данных о наличии территорий и акваторий с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой. Одним из путей снижения риска заболевания человека и животных трансмиссивными болезнями является борьба с переносчиками путем использования инсектицидных препаратов. Инсектициды химического синтеза для этой цели неприемлемы по санитарно-гигиеническим и экологическим требованиям, особенно в водной среде обитания кровососущих комаров. Поэтому разработка эффективных, экологически безопасных биомоскитоцидов является актуальной задачей современной медицинской биотехнологии.

Проведен скрининг штаммов энтомопатогенных грибов на активность в отношении личинок кровососущих комаров. В работе использовали штаммы грибов из рабочей коллекции ГНЦ ПМБ, созданной в течение 2002-2006 г. в результате целенаправленного поиска и выделения изолятов из природных образцов, собранных в различных природно-климатических зонах России.

Скрининг штаммов на москитоцидную активность проводили по двух-ступенчатой схеме. На первом этапе оценивали активность мицелиальной культуры, выращенной на плотной питательной среде, для чего использовали смыв мицелиальной суспензии в объеме 1 мл с концентрацией конидий  $1 \times 10^6$ .

На втором этапе определялась активность штамма при его культивировании на жидкой питательной среде в качалочных колбах. Нарработку биомассы грибов в качалочных колбах проводили на среде Сабуро с добавлением дрожжевого экстракта или на среде, содержащей соевую муку и дрожжевой экстракт. Культивирование проводили при температуре 23°C на микробиологической качалке (260 об/мин) в течение 4-6 дней до выхода культуры на стационарную фазу роста. Для тестирования использовали фугат культуральной жидкости при его последовательном двукратном разведении.

Москитоцидную активность определяли на личинках комаров *Aedes aegypti*. Учет смертности личинок комаров в опытах со смывами конидий проводили на первый, пятый и десятый день с определением среднелетального времени – LT50. Активность фугата определяли по величине среднелетальной концентрации – LC50. Учет смертности проводили на первый, второй и третий день. Тестируемые штаммы классифицировали по активности:  $LT50 \leq 24$  часа и  $LC50 \leq 10\%$  разведенного фугата на первый день учета – высокоактивные;  $LT50 \leq 120$  часов и  $LC50 \leq 50\%$  от разведенного фугата – умеренно активные.

В таблице представлены результаты скрининга штаммов энтомопатогенных грибов на москитоцидную активность. Всего было протестировано 129 штаммов из 38 родов микромицетов. Выявлено 35 штаммов с москитоцидной активностью, из которых 10 штаммов отнесены к высокоактивным: *Chrysosporium keratinophilum*, *Calcarisporium arbuscula*, *Sesquicillium candelabrum*, *Clonostachys rosea* (2 штамма), *Metarhizium flavoviride*, *Paecilomyces farinosus*, *Tolyposcladium cylindrosporium* (3 штамма). 25 штаммов обладают умеренной активностью.

У высокоактивных штаммов LC50 составляет 2,65 – 0,85 мг/мл; LT50 – 0,5-0,7 суток. Эти штаммы отобраны для дальнейшей работы по получению и исследованию метаболитов грибного синтеза с москитоцидными свойствами.

*Работа поддержана грантом МНТЦ # 2338р «Энтомопатогенные грибы и их метаболиты».*

Таблица. Энтомопатогенные грибы и их москитоцидная активность

№ пп	Род грибов	Количество протестированных штаммов	Количество штаммов с москитоцидной активностью	
			Высоко активные	Умеренно активные
1	<i>Paecilomyces</i>	11	1	5
2	<i>Beauveria</i>	4	0	2
3	<i>Lecanicillium</i>	6	0	0
4	<i>Cordyceps</i>	3	0	0
5	<i>Arthrotrichy</i>	3	0	0

6	Tolypocladium	9	3	2
7	Clonostachys	4	2	0
8	Metarhizium	8	1	7
9	Scopulariopsis	1	0	0
10	Cladosporium	1	0	0
11	Engyodontium	5	0	1
12	Entomophthora	2	0	1
13	Evlachovaea	7	0	0
14	Cephalosporium	7	0	0
15	Simplicillium	4	0	3
16	Geomyces	5	0	0
17	Polycephalomyces	4	0	2
18	Aschersonia	1	0	0
19	Chaetomium	5	0	0
20	Sporothrix	2	0	0
21	Doratomyces	3	0	0
22	Nomuraea	2	0	0
23	Conidiobolus	2	0	0
24	Pochonia	2	0	0
25	Batkoa	1	0	0
26	Chrysosporium	1	1	0
27	Tritirachium	1	0	0
28	Botryotrichum	1	0	0
29	Calcarisporium	1	1	0
30	Dactylaria	1	0	0
31	Malbranchaea	1	0	0
32	Ochroconis	1	0	0
33	Petriella	1	0	0
34	Sesquicillium	1	1	0
35	Hansfordia	1	0	0
36	Achlya	9	0	2
37	Pythium	1	0	0
38	Saprolegnia	7	0	0
Итого	129	10	25	

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В РАЦИОНАХ НОРОК И СОБОЛЕЙ БАД «ФЛОРАВИТ Э» НА ОСНОВЕ FUSARIUM SAMBUCINUM В КАЧЕСТВЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ.

*Лоенко Н.Н., Пучков А.В., Чернова И.Е.*

*ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства им. В.А.Афанасьева  
Московская область*

В медицине БАД «Флоравит Э» (водный и масляный растворы), полученные из гриба *Fusarium sambucinum*, применяют для немедикаментозного регулирования и поддержания функций желудочно-кишечного тракта, печени, коррекции иммунитета (Турьянов, Погорельская, Бредихина и др., 2002).

В звероводстве на норках и песцах с положительным результатом применяются в качестве кормовой добавки мицелий гриба пенициллина (Вачугова, 1991), мицелий гриба тетрациклина (Власов, 1994), мицелий гриба *Aspergillus niger* (Фомченкова, 2000).

Целью данной работы являлась оценка действия препаратов «Флоравит Э» в качестве кормовой добавки на продуктивность самок норок и соболей.

Материал и методы исследований. Научно-хозяйственные опыты проводили в ОАО «Племзавод Родники» Московской области на основном стаде самок норок и соболей в период беременности и лактации. Группы формировали в соответствии с общепринятой методикой постановки научно-хозяйственных опытов (Балакирев, Юдин, 1994).

Первый опыт проводили с 30 марта по 8 июня на двух группах норок окраса «дикая», по 25 голов взрослых самок в каждой группе. Зверей кормили хозяйственным кормом с кормовыми добавками. 1-я группа – контрольная, 2-я – I опытная группа получала корм с водным раствором «Флоравит Э» в количестве 1,0 мл на голову в сутки в период беременности и лактации. Первую неделю опыта самки получали добавку в половинной дозе. Содержание основных перевариваемых питательных веществ в рационе было, г на 100 ккал ОЭ: протеина – 9,5 – 9,2, жира 4,0 – 4,3, углеводов – 4,7 – 4,4. Уровень энергетического питания по месяцам: 243, 243, 367 ккал на голову в сутки.

Второй опыт проводили с 7 февраля по 7 мая на взрослых покрытых самках соболей. Звери получали хозяйственный рацион, содержащий в среднем г на 100 ккал ОЭ: протеина 9,8, жира 3,8, углеводов 5,1. Среднесуточная калорийность корма была 381 ккал ОЭ за период опыта.

В 1-ой контрольной группе было 36 голов и во 2-ой опытной – 32 головы. В корм опытной группы добавляли водный раствор «Флоравит Э». Первую неделю по 0,5 мл, затем по 1 мл на голову в сутки. До начала проведения второго опыта, на протяжении опыта и после его окончания были проведены бактериологические исследования микрофлоры корма и фекалии у 6 самок каждой группы. Исследования проводились за 5 дней до включения кормовых добавок и затем с интервалом 30 дней в течение 5 месяцев. Всего было исследовано 16 проб кормосмесей и 144 проб фекалий самок соболей.

В третьем опыте изучали последствие водного раствора «Флоравит Э» на воспроизводительную функцию взрослых самок соболей. Самки опытной группы (2-я группа) в период гона с 1 июля по 1 августа получали с кормом водный раствор «Флоравит Э» в дозах, аналогичных I и II опыту, 1-я группа служила контролем. Результаты оценивали на следующий год после щенения самок.

По окончании всех опытов проведен учет показателей воспроизводства, полученные данные статистически обработаны.

Результаты исследований. Данные по щенению самок приведены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели воспроизводства самок норок и соболей,  $M \pm m$

	Группа	n	Покрыто самок, %	Без приплода, %	Плодовитость, гол	Выход молодняка на основную самку, гол
I опыт	контроль	25	100,0	28,0	$7,11 \pm 0,44$	$4,76 \pm 0,71$
	опытная группа	25	100,0	8,7	$6,62 \pm 0,58$	$5,72 \pm 0,60$
II опыт	контроль	36	100,0	33,3	$3,2 \pm 0,25$	$1,81 \pm 0,30$
	опытная группа	32	100,0	34,4	$3,5 \pm 0,30$	$1,97 \pm 0,30$
III опыт	контроль	30	100,0	56,7	$3,69 \pm 0,33$	$1,56 \pm 0,36$
	опытная группа	29	100,0	13,8	$3,32 \pm 0,29$	$2,48 \pm 0,35$

I опыт на самках норок. Анализ результатов воспроизводства самок норок (табл. 1) показал, что в опытной группе самок без приплода было в 3,2 раза меньше, т.е. использование водного раствора «Флоравит Э» в качестве кормовой добавки позволило снизить процент пропустования самок на 19,3 % ( $P > 0,90$ ) и за счет этого повысить выход молодняка на самку на 0,96 – 1,0 щенка (не достоверно).

II опыт на самках соболей. В опыте были получены следующие данные по воспроизводству самок (табл.1): в группах оценилось одинаковое количество самок (66,2 – 66,6 %). В опытной группе выход молодняка на 0,2 щенка был выше, чем в контроле. В период опыта были проведены бактериологические исследования микрофлоры корма и фекалий у самок.

Общая бактериальная обсемененность корма составила от 500 тыс. до 1 млн. микробных тел. Выявлена условно-патогенная и патогенная микрофлора (*Ps. Aeruginosa*, *Str.*, *Candina alb.*, *E. coli*). До включения кормовых добавок в каловых массах обеих групп также присутствовала данная микрофлора. При применении препарата по истечении 30 дней опыта в фекалиях патогенная и условно-патогенная микрофлора отсутствовала и вновь была установлена через 2 месяца после окончания опыта.

По данным клинических испытаний («Биологически активная добавка «Флоравит Э» в гастроэнтерологии». Методические рекомендации. Кафедра инфекционных болезней РМАПО. Москва, 2003 г.) была установлена эффективность препаратов БАД «Флоравит Э» при коррекции микробиоценоза кишечника и снижение обсеменения при хеликобактерной инфекции. Это, по мнению авторов, может быть связано с нормализацией иммунного статуса и укреплением факторов неспецифической защиты в организме.

III опыт на самках соболей. В опыте изучали последствие применения водного раствора «Флоравит Э» в гон на последующую воспроизводительную способность самок соболей (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют, что в опытной группе оценилось на 43,3% ( $P > 0,999$ ) самок больше. За счет снижения количества самок без приплода при включении добавки выход молодняка на основную самку был выше на 0,92 ( $P > 0,90$ ).

Таким образом, на основании проведенных исследований была установлена возможность использования новой кормовой добавки для самок норок и соболей.

#### **Выводы:**

1. Включение в рационы самок норок и соболей в период гона, беременности и лактации водного раствора «Флоравит Э» в количестве 1,0 мл на голову в сутки положительно влияет на их воспроизводительную функцию.

2. Применение водного раствора «Флоравит Э» в качестве добавки к корму позволяет снизить количество самок без приплода и обеспечивает получение дополнительной продукции из расчета на одну самку основного стада, что имеет практическое значение.

3. Выявлены положительные изменения в микробиоценозе кишечника самок соболей на фоне применения водного раствора «Флоравит Э» в качестве кормовой добавки, что может, опосредовано через улучшение неспецифической резистентности организма, влиять на улучшение показателей продуктивности зверей.

## **БИОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ВЫСШИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ ПОСЛЕ СВЕТОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ**

*Поединок Н.Л.<sup>1</sup>, Ефременкова О.В.<sup>3</sup>,  
Михайлова О.Б.<sup>1</sup>, Негрейко А.М.<sup>2</sup>*

*1 Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины, Киев*

*2 Институт физики НАН Украины, Киев*

*3 Институт новых антибиотиков им. Гаузе, Москва*

Сейчас биотехнология производства лекарственных веществ требует максимальной интенсификации всех технологических этапов культивирования продуцентов. В связи с этим актуальной становится проблема поиска эколо-

гически чистых стимуляторов их биологической активности. Имеющиеся в настоящее время в литературе сведения позволяют говорить о возможности реализации высокоэффективных биотехнологий, базирующихся на использовании света для получения культур с высокой биологической активностью, повышенным внутри- и внеклеточным содержанием ценных биологических продуктов. Известно, что свет является одним из морфогенетических факторов роста и развития многих видов культивируемых грибов. Однако, он до сих пор не нашел практического применения в биотехнологиях промышленного культивирования высших грибов, которые являются продуцентами многих лекарственных веществ. Это объясняется тем, что механизмы фоторецепции у грибов в настоящее время изучены недостаточно. Сейчас преобладает эмпирический подход к разработке методов светового воздействия на грибы. Это связано с отставанием теоретического и экспериментального обоснования механизма взаимодействия низкоинтенсивного излучения с грибным организмом. Тем не менее, практическое использование света в биотехнологических процессах возможно даже в отсутствии общепринятых выводов о механизмах его действия (естественно, выяснение механизмов многократно усилило бы эффективность), но при условии тщательного исследования спектра действия, наиболее эффективных длин волн, режимов облучения (интенсивности, дозы, геометрии, поляризации, когерентности и т.п.). Одним из спорных остается, в частности, вопрос о специфичности лазерного излучения низкой интенсивности на биологические объекты. Одна группа исследователей считает, что когерентность лазерного излучения не является определяющей при воздействии света на живой организм, другие объясняют биологическую активность когерентного лазерного излучения через механизм пространственной неоднородности лазерного поля.

Как показали наши исследования и работы других ученых грибы неодинаково ведут себя под влиянием света. У грибов обнаружена регуляторная система, названная микохромной, по аналогии с фитохромной системой у высших растений. Сейчас микохромные системы обнаружены у представителей различных таксономических групп: аскомицетов, базидиомицетов, дейтеромицетов. Подавляющее большинство грибов, у которых установлено присутствие микохромных систем, имеют пигменты каротиноидной и меланиновой природы.

Нами проводятся исследования влияния низкоинтенсивного видимого света разной длины волны (когерентного и некогерентного) на рост и биосинтетическую активность разных видов высших грибов, обладающих лекарственными свойствами. Особое место среди них занимают пигментсодержащие штаммы *Inonotus obliquus* и *Laetiporus sulphureus*. Изучено влияние света в видимой части спектра на рост и биосинтетическую активность *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, *Laetiporus sulphureus* и *Hericium erinaceus* и определено, что облучение в определенных режимах стимулирует мицелиальный рост, сокращает фазы развития грибов, способствует формированию более мощного и активного

мицелия и увеличивает урожайность плодовых тел. Активация посевного мицелия путем облучения красным или синим светом позволяет снизить дозу его внесения в субстрат в два раза. В настоящее время усилия исследователей и разработчиков направлены на поиск научно-технических решений, позволяющих достигнуть более высоких экономических показателей при получении биомассы лекарственных грибов и создание конкурентно способных фармакологических препаратов и средств. Суть решения этой задачи состоит в использовании глубинного метода выращивания лекарственных грибов. Наши исследования показали, что облучение низкоинтенсивным светом в видимой области спектра стимулирует рост и накопление биомассы изученными видами грибов в глубинной культуре. Анализируя динамику накопления биомассы, мы обнаружили, что облучение посевного мицелия приводит сокращению лаг фазы и увеличению скорости роста культуры. На данном этапе исследований пока нельзя однозначно утверждать о преимуществах когерентного или некогерентного света. Можно только говорить о положительном воздействии света на рост и накопление биомассы, изучаемыми грибами в красной и синей частях спектра. Полученные результаты наших экспериментов, однако, позволяют утверждать, что импульсный свет биологически более активен, чем непрерывный. Это подтверждает результаты исследований, полученные другими исследователями на высших растениях. Проведено изучение влияния облучения в различных режимах светом разной длины волны на биосинтез полисахаридов (*G. lucidum*, *L. edodes* and *H. erinaceus*), меланинов (*I. obliquus*), каротиноидных пигментов (*L. sulphureus*) и антимикробную активность *P. ostreatus*. Облучение синим и красным светом посевного мицелия *G. lucidum*, *L. edodes* and *H. erinaceus* увеличивало накопление ими полисахаридов на 40-64%. Максимум накопления меланинов *I. obliquus* отмечался при воздействии на него синего света – 10,5 г/л (в контроле – 6,05 г/л), а максимум увеличения биомассы и накопления каротиноидных пигментов *L. sulphureus* – при облучении красным светом. Это подтверждает теорию о некотором различии фоторегуляторных систем у меланин- и каротинсодержащих грибов (Fraikin et al., 1976; Valadon et al., 1979): у грибов синтезирующих каротиноидные пигменты она ближе к фитохромным системам высших растений. Облучение низкоинтенсивным лазерным светом длиной волны 632,8 нм в непрерывном и импульсном режиме позволило увеличить антимикробную активность *P. ostreatus* в глубинной культуре (экстракт мицелия и культуральная жидкость) к *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus mycoides* на 10-20%.

Анализ полученных результатов свидетельствует о перспективности использования света для повышения биологической активности изученных видов грибов. Следующим этапом исследований в этом направлении может быть изучение механизмов действия света, подбор эффективных длин волн и оптимизация режимов облучения, определение его влияния на синтез и свойства синтезируемых при этом соединений.

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ СИБИРСКИХ ШТАММОВ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В ОТНОШЕНИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Садыкова В.С.<sup>1</sup>, Гаврилова А.Г.<sup>1</sup>, Чижмотря Н.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный технологический университет,

Центр биотехнологии и микологии

<sup>2</sup> Красноярский научно-исследовательский институт проблем Севера,  
лаборатория молекулярной физиологии клетки и патологии

Опыт более чем полувекового использования антибиотиков в лечении инфекционных заболеваний показывает, что у патогенных микроорганизмов рано или поздно вырабатываются механизмы устойчивости к используемым препаратам, как природным, так и их полусинтетическим аналогам. Резистентность патогенных микроорганизмов к антимикробным препаратам с каждым годом возрастает, причем ее выраженность бывает настолько велика, что многие широко применяемые лекарственные средства теряют свою значимость при лечении ряда инфекций. В связи с этим, поиск новых продуцентов антибиотических веществ, активных в отношении патогенных микроорганизмов, остается актуальной задачей.

Грибы рода *Trichoderma*, являющиеся в природе антагонистами фитопатогенных грибов, в последние годы привлекают внимание не только с точки зрения создания биопрепаратов защиты растений, но и как продуценты активных метаболитов с фармакологическими свойствами.

Целью нашей работы являлся поиск метаболитов с антибиотическими свойствами, продуцируемыми сибирскими штаммами грибов рода *Trichoderma* в отношении условно-патогенных микроорганизмов. В задачи исследования входило изучение антибиотической активности в отношении условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus* и грибов рода *Candida*.

В работе использовали 9 штаммов грибов рода *Trichoderma* из коллекции музея Центра биотехнологии и микологии СибГТУ. Штаммы бактерий рода *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. caprae*, *S. warneri*, *S. copnii*, *S. haemoliticus*, *S. caseoliticus*, *S. equorum*, *S. intermedius*) и *Candida albicans* предоставлены из коллекции культур Красноярского научно-исследовательского института Проблем Севера (НИИ проблем Севера, г. Красноярск). Штаммы рода *Staphylococcus* обладают множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам пенициллинового ряда. Метаболиты грибов рода *Trichoderma* получали путем культивирования штаммов в колбах Эйленмеера объемом 250 мл на жидкой питательной среде Чапека в течение 14 суток. Культуральную жидкость отделяли от биомассы фильтрованием через мембранные бактериологические фильтры на воронке Зейца под

вакуумом. Отфильтрованную стерильную культуральную жидкость исследовали на антибиотическую активность в отношении 9 штаммов видов рода *Staphylococcus*. Тест-организмы выращивали на унифицированной плотной питательной среде – агаре Мюллера-Хинтона. Для получения взвеси использовали сливной или полусливной рост посева микроорганизмов. Посев осуществляли путем инокуляции тампоном по методу Кирби-Бауэра. Посевная доза взвеси культур составляла  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл (0,5 по стандарту мутности McFarland).

Оценку бактерицидной активности исследуемых экстрактов и культуральной жидкости осуществляли методом лунок. Метаболиты вносили в лунки в количестве 0,1 мл. Посевы инкубировали в термостате при температуре  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение суток. Учет результатов проводили измерением зон подавления роста. Культуру считали активной, если зона просветления была не менее 10 мм.

Оценка антибиотической активности штаммов рода *Trichoderma* в отношении условно-патогенных тест-объектов показала, что чувствительными к действию метаболитов грибов были восемь из девяти изученных штаммов рода *Staphylococcus*. Наибольшую чувствительность ко всем метаболитам проявлял штамм золотистого стафилококка. Активность в отношении *Candida albicans* проявлялась только у одного штамма.

Для оптимизации условий поверхностного культивирования были исследованы разные источники углерода (глюкоза, сахароза, декстроза), а также продолжительность культивирования. Было установлено, что активность метаболитов *Trichoderma* не зависит от источника углерода, а только от времени культивирования. Наибольшее количество антибиотических веществ в среде накапливается на 15 сутки. По результатам скрининга отобрано 4 штамма грибов рода *Trichoderma* с высокой активностью для проведения дальнейших работ по анализу их метаболитов.

Данные, полученные в результате проведенных исследований, указывают, на то, что метаболиты грибов рода *Trichoderma* содержат активные антимикробные вещества в отношении условно-патогенных стафилококков и обладают фунгицидной активностью. В этой связи они могут представлять особый интерес, так как являются потенциальным биологическим ресурсом для получения противомикробных препаратов для грамположительных условно-патогенных микроорганизмов.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭКЗО- И ЭНДОПОЛИСАХАРИДОВ, ОБРАЗУЕМЫХ LENTINUS EDODES ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Смирнов Д.А.<sup>1</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Никитина В.Е.<sup>2</sup>, Рожкова З.А.<sup>1</sup>,  
Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Осадчая О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск

<sup>2</sup> Украина, Киев, Институт ботаники

им. Н.Г. Холодного НАН Украины

*Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] или шиитакэ – дереворазрушающий гриб, плодовые тела которого широко применяются в странах Юго-Восточной Азии для создания лечебно-профилактических препаратов с иммуностимулирующей активностью. Исследования последних лет указывают на то, что уникальные терапевтические свойства гриба определяют, прежде всего, высокомолекулярные гликаны. Из плодовых тел и мицелия выделены и охарактеризованы ряд биологически активных полисахаридов и полисахарид-белковых комплексов («Лентинан», KS-2, LEM и др.). Биологически активные углеводы *L. edodes* преимущественно представлены высокомолекулярными протеогликанами с преобладающим мономером в углеводной части – глюкозой.

Поскольку *L. edodes* накапливает полисахариды не только в плодовых телах, но и в мицелии и культуральной среде, представляло интерес сравнить физико-химические свойства высокомолекулярных углеводов, образуемых грибом при разных способах культивирования (твердофазном, глубинном и стационарном).

*L. edodes* выращивали глубинным способом на пивном сусле 7ε Б в колбах Эрленмейера на качалке при температуре 23-25°C – глубинное культивирование; поверхностное культивирование осуществляли на чашках Петри на сусле-агаре; стационарное – на пивном сусле в колбах Эрленмейера без перемешивания.

При культивировании на жидких питательных средах (глубинном и стационарном) гриб выделял в среду внеклеточные гликаны – экзополисахариды. Для их получения культуральную жидкость отделяли от мицелия фильтрованием, упаривали в несколько раз на роторном испарителе и осаждали 96 % этиловым спиртом в соотношении 1:1. Выпавшие хлопья полисахарида осаждали центрифугированием, отмывали спиртом и использовали для дальнейших исследований.

Для получения эндополисахаридов из биомассы (глубинное, стационарное и поверхностное культивирование) мицелий гриба разрушали замораживанием, после чего экстрагировали кипячением в воде в течение 12 часов, супернатант отделяли центрифугированием, упаривали в несколько

раз и эндополисахариды осаждали спиртом 1:1. Выпавшие полисахариды отмывали спиртом.

Экзо- и эндополисахариды гриба, независимо от способа культивирования, полностью растворялись в воде при нагревании до 80-90°C и постоянном перемешивании.

Спектры поглощения полисахаридов в УФ и видимой областях незначительно отличались между собой и имели характерный для углеводов профиль экспоненциальной кривой с максимумом в УФ диапазоне. Некоторое уширение кривой наблюдалось в области 260 нм, что характерно для нуклеиновых кислот. Если во фракциях экзополисахаридов нуклеиновые кислоты практически не содержались (D260/D 230 0,525–0,564), то при выделении эндополисахаридов вместе с гликанами осаждается и значительное количество нуклеиновых кислот (D260/D 230 0,867–0,977).

Характерной особенностью высокомолекулярных гликанов является высокая кинематическая вязкость их водных растворов. Как видно из данных, приведенных в таблице 1, растворы полисахаридов *L. edodes* имели больший показатель кинематической вязкости, чем таковой воды. Отличие по данному показателю между эндополисахаридами, образуемыми грибом при глубинном культивировании, и эндополисахаридами, образуемыми при стационарном, незначительно. Аналогичная закономерность наблюдается и в случае экзополисахаридов. Как при глубинном, так и стационарном культивировании кинематическая вязкость экзополисахаридов больше таковой эндополисахаридов. Показатель кинематической вязкости полисахаридов, синтезируемых грибом при твердофазном культивировании, имеет промежуточное значение между таковым экзо- и эндополисахаридов.

Методом окрашивания по Бредфорд установлено присутствие белка в растворах полисахаридов в количестве 1–8% от веса гликана. Как при глубинном, так и стационарном культивировании содержание белка больше в экзополисахаридах. Наибольшее количество белка отмечено в растворах полисахаридов, образуемых при стационарном культивировании. Поскольку белок оставался и после обработки 20% ТХУ, можно предположить, что экзо- и эндополисахариды *L. edodes* являются протеогликанами.

Таблица 1. Кинематическая вязкость 0,1 % растворов полисахаридов, образуемых *L. edodes* при различных типах культивирования

Тип культивирования и фракция полисахаридов	Кинематическая вязкость, мм <sup>2</sup> /с
Стационарное культивирование, эндополисахариды	0,99
Стационарное культивирование, экзополисахариды	1,85
Глубинное культивирование, эндополисахариды	1,02

Глубинное культивирование, экзополисахариды	1,78
Чашки, эндополисахариды	1,39
Вода	0,89

При гельфильтрации на Тоуорепарл HW 65 экзо- и эндополисахариды гриба разделялись на две фракции: высокомолекулярную, элюируемую с колонки с нулевым объемом, и низкомолекулярную с молекулярным весом в области 70 кДа и менее. В экзо- и эндополисахаридах, образуемых при стационарном культивировании, преобладают высокомолекулярные фракции. Полисахариды, образуемые при глубинном культивировании, преимущественно элюируются с колонки во второй, низкомолекулярной фракции. Эндополисахариды, образуемые грибом при твердофазном культивировании, элюируются с колонки двумя пиками приблизительно равной площади.

Анализ мономерного состава полисахаридов (таблица 2) показал, что, независимо от способа культивирования, экзо- и эндополисахариды гриба являются гетерогликанами с преобладающим мономером глюкозой (54 – 96 %).

Таблица 2. Углеводный состав полисахаридов, образуемых *L. edodes* при различных типах культивирования

Тип культивирования и фракция полисахаридов	Мономеры, %				
	Арабиноза	Ксилоза	Манноза	Галактоза	Глюкоза
Стационарное культивирование, эндополисахариды	-	-	5,88	сл	94,12
Стационарное культивирование, экзополисахариды	-	8,26	29,71	7,26	54,41
Глубинное культивирование, эндополисахариды	-	-	-	3,65	96,35
Глубинное культивирование, экзополисахариды	-	сл	4,54	сл	95,46
Чашки, эндополисахариды	сл	сл	6,66	14,30	79,04

Проведенные исследования показали, что способ культивирования оказывает определенное влияние на строение образуемых *L. edodes* экзо- и эндополисахаридов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-РФФИ (проект №Б06Р-059).*

## СПОСОБНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ *F.SAMBUCINUM* К ОБРАЗОВАНИЮ ДИАЦЕТОКСИСЦИРПЕНОЛА И ЦИКЛОГЕКСАДЕПСИПЕПТИДОВ

Соколова Г.Д.<sup>1</sup>, Девяткина Г.А.<sup>1</sup>, Передеряев О.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ВНИИ фитопатологии РАСХН, Большие Вяземы Московской обл.

<sup>2</sup> ГУ НИИ питания РАМН, Москва

Диацетоксисцирпенол (DAS) – известный микотоксин, относящийся к трихотеценам типа А. Циклогексадепсипептиды – класс циклических веществ, состоящих из чередующихся фрагментов D- $\alpha$ -оксиизовалериановой и N-метил-L-аминокислот. В случае наличия в молекуле фрагментов алифатических аминокислот (чаще всего – N-метил-L-валина и/или N-метил-L-изолейцина) вещества получили название энниатинов, а в случае ароматической кислоты (N-метил-L-фенилаланина) – боверицина, в соответствии с названием грибов, из которых они были впервые выделены.

Циклогексадепсипептиды образуют многие фитопатогенные виды *Fusarium*, поражающие сельскохозяйственные растения. В последнее десятилетие энниатины и боверидины были обнаружены в зерне колосовых культур и кукурузы в странах Европы, Южной Африки, в Канаде, США и других. Циклодепсипептиды обладают ионофорными и мембраномодифицирующими свойствами и характеризуются широким спектром биологической активности. В связи с потенциальной угрозой для здоровья человека и домашних животных – потребителей зерновой продукции, они причислены к микотоксинам.

При изучении токсикологических особенностей циклогексадепсипептидов был обнаружен ряд свойств, представляющих фармакологический интерес. Можно выделить три основных направления, в которых ведутся исследования, пока в опытах *in vitro* на культурах клеток. Показана способность циклодепсипептидов ингибировать ацил-КоА-холестерин-ацилтрансферазу (Tomoda et al., 1992) и предполагается возможность использования этого свойства для подавления развития гиперхолестеринемии. Наблюдения, свидетельствующие об индукции процессов апоптоза под действием боверидина, привлекают внимание онкологов, занимающихся проблемами развития раковых клеток (Jow et al., 2004). Ингибирование циклогексадепсипептидами центров мультилекарственной устойчивости, аналогичных Pdr5p в дрожжевых клетках *Saccharomyces cerevisiae* (Hiraga et al., 2005), может быть использовано для преодоления устойчивости микроорганизмов к лекарственным препаратам. Например, отмечалось, что боверидин усиливал антигрибную активность миконазола против *Candida albicans*, при этом не только дикого типа, но и изолятов, устойчивых к флуконазолу (Fucuda et al., 2004).

С целью поиска эффективных продуцентов циклогексадепсипептидов была проведена оценка изолятов вида *F.sambucinum*, известного по ли-

тературным данным способностью к образованию энниатинов В или А. Поскольку грибы вида *F.sambucinum* могут продуцировать трихотеценовые микотоксины, одновременно проводилась оценка и этой способности.

Изоляты были выделены из пораженных гнилью клубней картофеля, с проростков яровой пшеницы и из почвы под зерновыми. Отобраны три изолята, представляющие наиболее типичные морфолого-культуральные типы.

Грибы выращивали глубинным методом на двух разных по составу питательных средах, а также на твердом субстрате – автоклавированном зерне пшеницы.

В вариантах с глубинным культивированием в течение 2-3 суток фракция циклогексадепептидов была обнаружена в биомассе гриба всех изолятов. Фракцию выделяли с помощью тонкослойной хроматографии, используя в качестве контроля стандартный образец энниатина В, и анализировали с применением методов ВЭЖХ, <sup>1</sup>H ЯМР- и масс-спектрометрии. Как было установлено, основными компонентами фракции были боверицин и, предположительно, энниатин В1.

В культуральном фильтрате двух изолятов обнаружен DAS, который определяли газохроматографически после предварительной очистки и дериватизации гептафторбутирилимидазолом. Результаты приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Биосинтез DAS и циклогексадепептидов изолятами *F.sambucinum* в условиях глубинного культивирования

Изолят гриба	Биомасса гриба после экстракции и сушки на воздухе, г	Количество DAS в культуральной среде, мкг/г гриба	Количество циклогексадепептидов в мицелии, мкг/г	
			Энниатин В1	Боверицин
Мелассо-пептонная среда**				
Fs III	6,8	н/о*	17	15
Fs I	7,1	3470	16	4
Fs II	7,5	5662	27	6
Среда Рихарда***				
Fs III	1,2	н/о	204	69
Fs I	7,1	144	14	6
Fs II	6,5	1405	13	39

н/о\* – не обнаружено

\*\* – Мелассо-пептонная среда состава (г/л): меласса – 60, пептон – 0,8,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5,  $\text{KCl}$  – 0,5.

\*\*\* – Модифицированная среда Рихарда состава (г/л): глюкоза – 50,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 10,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 2,5,  $\text{FeCl}_3$  – 0,02.

Как было установлено, количество микотоксинов и соотношение циклогексадепептидов зависело от среды культивирования. При выращивании на стерилизованном зерне среди DAS-продуцирующих изолятов во фракции циклогексадепептидов преобладал боверицин (табл.2).

Таблица 2. Биосинтез DAS и циклогексадепептидов изолятами *F.sambucinum*, выращенными на стерилизованном зерне пшеницы

Изолят гриба	Биомасса после экстракции и сушки на воздухе, г	Количество DAS в биомассе, мкг/г	Количество циклогексадепептидов в биомассе, мкг/г	
			Энниатин В1	Боверицин
Fs III	7,1	4	21	н/о
Fs I	5,4	453	18	212
Fs II	6,0	156	31	99

В дальнейшем планируется оценить другие виды *Fusarium*, чтобы выбрать более продуктивные и селективные в отношении циклогексадепептидов штаммы.

## ИНТЕНСИВНОСТЬ ЗИГООБРАЗОВАНИЯ У *BLAKESLEA TRISPORA* КАК КРИТЕРИЙ ОТБОРА КАРОТИНОГЕННЫХ ШТАММОВ

Терёшина В.М., Калинина Н.В., Меморская А.С., Феофилова Е.П.  
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН  
Москва

Промышленное производство  $\beta$ -каротина на основе мицелиальных грибов остается в настоящее время более рентабельным чем химический синтез и использование новых технологий с рекомбинантными ДНК.

Для любого микробиологического производства постоянной проблемой является критерий отбора высокопродуктивных штаммов. Поскольку каротиногенез необходим для процесса половой репродукции у муконовых грибов, то возникло предположение о том, что каротиногенные штаммы можно отбирать по двум признакам – содержанию полового гормона триспоровых кислот или по интенсивности зиготообразования. Для проверки этого предположения исследовали интенсивность зиготообразования при скрещивании четырех (+) и семи (-) штаммов из коллекции ВКМ Ф. В результате были отобраны две пары гетероталлических штаммов *Blakeslea trispora* – интенсивно образующие зигоспоры и неспособные к зиготообразованию. Проведено сравнение каротиногенеза у этих пар при поверхностном и погруженном культивировании и определение количества триспоровых кислот

В условиях поверхностного культивирования в совместной культуре показано, что интенсивное зиготообразование сопровождалось снижением

уровня каротиногенеза в мицелии как (+), так и (-) штамма, по сравнению с отдельно растущими штаммами. Напротив, при половом взаимодействии штаммов, не способных к зиготообразованию, наблюдается стимуляция каротиногенеза, особенно сильная у (-) штамма. В глубинной культуре зиготообразующие пары штаммов синтезировали значительно больше триспоровых кислот, но меньше каротиноидов, чем штаммы, не образующие зигоспор. Полученные данные обнаружили обратную зависимость между интенсивностью зиготообразования и каротиногенезом при обоих способах выращивания. В погруженной культуре пар штаммов, неспособных образовывать зигоспоры обнаруживалось значительно меньшее количество триспоровых кислот, чем у пар с высокой интенсивностью зиготообразования. На основании полученных данных предложен критерий для отбора высоко каротиногенных пар штаммов – низкая способность к зиготообразованию.

## ИНДУКЦИЯ СИНТЕЗА АНТИБИОТИКОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *PLEUROTUS* *OSTREATUS* И *PICHELIA HOLSTII*

*Тихонова О.В., Васильева Б.Ф.,*

*Сумарукова И.Г., Камзолкина О.В., Ефременкова О.В.*

*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН  
Московский Государственный Университет  
им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет  
Москва*

Распространение устойчивых к лекарственным средствам штаммов патогенных микроорганизмов диктует потребность в поиске новых антибиотиков. Перспективной группой организмов – продуцентов антибиотиков являются высшие грибы. Ранее нами было установлено, что *Pleurotus ostreatus* (вешенка) является продуцентом не менее семи антибиотиков, обладающих разным антимикробным спектром. (V.P. Gerasimenya et al., 2002).

В совокупности у этого вида проявляется антимикробная активность в отношении и грам-положительных, и грам-отрицательных бактерий, а также грибов. Синтез антибиотиков происходит в разные сроки культивирования, также следует отметить, что антимикробный синтез является штаммовым признаком, распространенным среди природных и сельскохозяйственных штаммов вешенки, однако не является обязательным для представителей этого вида.

Одним из направлений поиска природных антибиотиков является способ индукции антибиотического синтеза, основанный на взаимодействии разных видов. Нами было исследовано совместное культивирование представителей двух видов высших грибов: *Pleurotus ostreatus* 1137-20А и *Pichia holstii* ИНАп 3765.

Известно, что многие грибы, особенно ксилотрофы, используют в качестве дополнительного источника азота другие организмы, в том числе дрожжи. При изучении ультраструктурных особенностей ранее было показано, что вешенка лизирует дрожжевые клетки видов *Saccharomyces paradoxus* и *Rhodotorula minuta* при совместном культивировании (Камзолкина О.В. и др., 2006). При совместном культивировании наблюдали образование особых коротких округлых выростов мицелия, обеспечивающих контакт с близко расположенными клетками дрожжей.

Изучение биосинтеза антимикробных веществ проводили в погруженной культуре на питательной среде, содержащей 4% солодового экстракта, в условиях интенсивного аэрирования при температуре 28°C. Антимикробную активность определяли на 3, 7 и 14 сутки роста в отношении тест-организмов: *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *S. aureus* ИНА 00761, *Bacillus pumilis* NCTC 8241, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Aspergillus niger* ИНА 00760, *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259. Антимикробную активность культуральной жидкости определяли методом диффузии в агар.

Антимикробная активность культуральной жидкости штамма базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* 1137-20А проявляется только на 14 сутки роста в отношении грам-положительных бактериальных штаммов *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *S. aureus* ИНА 00761, причем уровень активности незначительный (диаметр зон подавления роста составляет 12-14 мм).

Антимикробная активность культуральной жидкости дрожжевого аскомицета *Pichia holstii* ИНАп 3765 проявляется на 7сутки роста в отношении грам-положительных бактериальных штаммов *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *S. aureus* ИНА 00761 и *Bacillus pumilis* NCTC 8241, но к 14-м суткам роста активности существенно снижается для обоих штаммов стафилококка и исчезает в отношении *B. pumilis*.

Антимикробной активности в отношении грам-отрицательных бактерий и грибов при раздельном культивировании в данных условиях проведения эксперимента не обнаружено.

При совместном культивировании на седьмые сутки роста проявляется антибиотическая активность в отношении грам-отрицательной бактерии *P. aeruginosa* ATCC 27853 и мицелиального гриба *Aspergillus niger* ИНА 00760, т.е. проявляется новая антимикробная активность, при отдельном культивировании не свойственная ни одному из двух штаммов (табл.). Следует подчеркнуть, что использовавшийся в данном исследовании штамм синегнойной палочки (*P. aeruginosa* ATCC 27853) на протяжении многих лет используется в Институте по изысканию новых антибиотиков в качестве тест-организма для поиска новых антибиотиков, однако обнаружение штаммов-продуцентов среди грибов, актиномицетов и эубактерий, проявляющих активность в отношении данного микроорганизма является чрезвычайно редким событием. С другой стороны, важность задачи поиска новых антибиотиков, эффективных в отношении синегной палочки, трудно переоценить, поскольку примерно 20% клинических

изолятов этой бактерии обладают множественной устойчивостью и не поддаются воздействию ни одного из известных лекарственных средств.

Антибиотическая активность культуральной жидкости на 7 сутки роста:

Штаммы	Тест-организмы		
	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>A. niger</i> ИНА 00760	<i>Sac. cerevisiae</i> RIA 259
<i>Pl.ostreatus</i> 1137-20A	0	0	0
<i>P.holstii</i> ИНАп 3765	0	0	0
<i>Pl.ostreatus</i> 1137-20A + <i>P.holstii</i> ИНАп 3765	33	14	0

Таким образом, было установлено, что совместное культивирование двух видов высших грибов приводит к индукции, предположительно у одного вида, синтеза антибиотиков, эффективных в отношении *P. aeruginosa* ATCC 27853 и *Aspergillus niger* ИНА 00760. Полученные данные подтверждают, что совместное культивирование является перспективным подходом к изысканию новых антибиотиков у грибов.

## НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОЛЕАГЕННЫХ ГРИБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ (*P. CUNNINGHAMELLA* И ДР.) В ПОЛУЧЕНИИ БИОДИЗЕЛЯ И ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

*Ткачевская Е.П.<sup>1</sup>, Конова И.В.<sup>1</sup>, Сергеева Я.Э.<sup>2</sup>,  
Галанина Л.А.<sup>2</sup>, Голикова М.В.<sup>1</sup>, Потапов Е.Э.<sup>1</sup>*

*1 Московская государственная академия  
тонкой химической технологии имени М.В. Ломоносова  
2 Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН*

В течение XX века был проявлен разносторонний интерес к проблеме микробного липогенеза и получена фундаментальная научная информация, широко отраженная в мировой литературе, о многообразии и специфичности состава липидов в различных живых системах, о функциональной роли липидных соединений в процессах жизнедеятельности, о физиологических особенностях синтеза липидов и возможностях регуляции синтеза и метаболизма липидов в живом организме.

Кроме научной фундаментальности проблема липогенеза представляет интерес и в аспекте прикладного значения природных липидов.

В последние десятилетия прошедшего века в СССР после научных разработок и организации производства препаратов β-каротина с использованием

гриба *Blakeslea trispora*, начатых по инициативе академика Г.К.Скрябина и успешно выполненных в комплексной работе ряда научных и производственных организаций. Руководитель этих работ в ИНМИ РАН – проф. М.Н.Бехтерева с сотрудниками начали исследования липогенеза грибов, синтезирующих фармакологически активные липиды, содержащие эссенциальные и эйкозаполиеновые жирные кислоты. Эти разработки, включающие отбор перспективных продуцентов, исследования физиологических особенностей биосинтеза и метаболизма липидов, создание регламентных схем биотехнологии получения целевых липидов и определение их физико-химических показателей и биологической активности, были выполнены проф. М.Н.Бехтеревой, к.б.н. Л.А. Галаниной, к.б.н. И.В. Коновой, к.б.н. Н.С. Фунтиковой с соавторами в комплексной работе с ММА им.И.М.Сеченова, МИТХТ им М.В.Ломоносова и др. коллегами и изложены в научных публикациях, авторских свидетельствах и патентах, а также в отчетах по профинансированным проектам и заданиям. Были предложены грибные липиды трех типов с преимущественным содержанием тех или иных биоактивных полиеновых жирных кислот, а также липиды олеинового типа, синтезируемые грибами *p. Cunninghamella*. В наших работах (М.Н.Бехтерева и др., И.В.Коновая и др. была также показана возможность использования грибных липидов и в технических областях, таких как лакокрасочная промышленность, гидromеталлургия, антибиотическая промышленность. Кроме того, в МИТХТ им. М.В.Ломоносова совместно с ИНМИ им. С.Н. Виноградского РАН были начаты работы по изучению возможности замены биодизеля растительного происхождения и использования микробной биомассы в качестве нового энергетического источника [Е.П.Ткачевская и др., 2005].

В данной работе обсуждается эта возможность, а также перспективность использования липидов грибов в химическом синтезе ценных полимеров.

Работа выполнена при участии студентов – выпускников МИТХТ им М.В.Ломоносова, микробиологическая часть исследований осуществлена на базе ИНМИ им. С.Н.Виноградского РАН совместно с сотрудниками группы под руководством к.б.н. И.В.Коновой.

При исследовании перспектив для использования в качестве биодизеля целесообразно отбирать культуры грибов, способные к «сверхсинтезу» липидов, которые, как известно, являются наиболее энергетически богатыми компонентами клеток микроорганизмов.

При исследовании грибов с вышеуказанными целями оценивалась интенсивность роста грибных культур, их липогенная активность, состав основных классов липидных соединений и состав индивидуальных жирных кислот суммарных липидов, экстрагированных из биомассы.

В результате скрининговых экспериментов с использованием более чем 60-ти штаммов низших мицелиальных грибов различных таксонов были определены как наиболее активные синтетики липидов грибы *p. Cunninghamella* (*Cunninghamella japonica*, *C. elongata*, *C. echinulata*). При этом для культивирования этих грибов можно использовать среды

сравнительно более простые по составу и заменять компоненты среды производственными отходами (такими как, например, белковый препарат отходов сельского хозяйства, а также отходами пищевой промышленности, гидролизного производства).

В наших экспериментах были отобраны культуры *C. japonica* и *C. echinulata*.

В биомассе *C. echinulata* после 96-ти часов культивирования при синтезе *de novo* на глюкозо-аспарагиновой среде с минеральными солями содержание липидов составляло 51.4%, содержание олеиновой кислоты в сумме жирных кислот составляло 39.3%. При использовании *C. japonica* максимальное содержание липидов в биомассе достигало 60% и более, а максимальное содержание олеиновой кислоты превышало 50% и могло достигать 80%. В сумме клеточных липидов этих грибов, как и в липидах масличных растений, преобладают триацилглицериды, содержание которых в биомассе повышается в конце фазы экспоненциального роста, что совпадает во времени с 96-120 часами культивирования грибов. На рис.1 представлены данные о росте и липогенезе *C. japonica* при синтезе липидов *de novo* на среде с глюкозой, аспарагином и минеральными солями, а также на среде, где аспарагин был заменен белковым препаратом отходов сельского хозяйства.

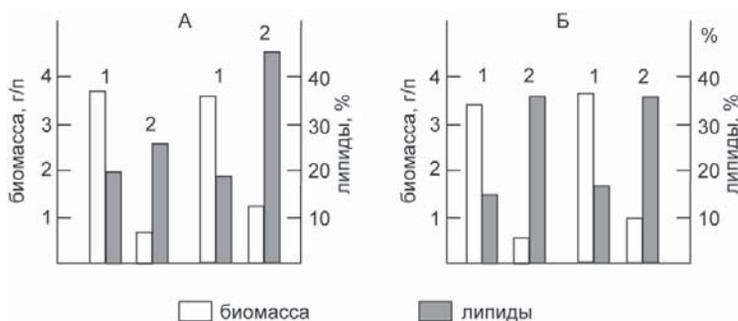


Рис. 1. Накопление биомассы и липидов *C. japonica* при синтезе липидов *de novo* на среде с аспарагином (А) и на среде с белковым препаратом отходов сельского хозяйства (Б) при различных соотношениях С/Н: 1 – 15; 2 – 60.

Используя физиологические факторы регуляции олеагенности грибов, можно оказывать влияние как на рост культуры, так и на ее липогенную активность. Так при изменении соотношения С/Н с 268 до 215 величина пула жирных кислот (мг/г сухой биомассы) возрастала с 303 до 646. Однако в наших экспериментах при одной и той же величине соотношения С/Н в зависимости от взятых концентраций азота и углерода менялось содержание пула жирных кислот и его состав (табл. 1).

Табл. 1. Состав и содержание  
(% от суммы) жирных кислот общих липидов *C. japonica*

C/ N	Пул жирных кислот, мг/г сухой биомассы	Жирная кислота, % от суммы жирных кислот								
		C <sub>12:0</sub>	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:1</sub>
54	458	0.2	0.5	17.0	0.4	8.4	50.5	13.1	9.6	0.5
54	299	0.2	0.7	19.4	0.4	10.9	29.8	20.8	16.6	1.0

За рубежом в качестве энергетических источников апробировано масличное растение – рапс, в некоторых хозяйствах России вынуждено экспериментируют, используя подсолнечник. По преобладанию триацилглицеридов в составе липидов и по составу жирных кислот (табл.2) липиды грибов грибов *p. Cunninghamella*, в частности *C. japonica*, относятся к маслам олеинового типа с преобладанием олеиновой кислоты (C18:1) и большим или меньшим содержанием полиеновых (линолевой (C18:2) и линоленовой (C18:3)) жирных кислот. Таким образом, липиды грибов *p. Cunninghamella* близки к оливковому, подсолнечному маслам, а также к рапсовому маслу тех растений, в составе жирных кислот которых содержание эруковой (C22:1) кислоты минимально (менее 5%). В маслах этих растений преобладает олеиновая кислота, содержание которой в сумме жирных кислот составляет 50% и более, а также полиены C18 (линолевая, линоленовая), среди насыщенных жирных кислот – пальмитиновая.

Табл. 2. Состав и содержание (% от суммы) жирных кислот триацилглицеридов *C. japonica*

Жирная кислота, % от суммы жирных кислот						
C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
0.5	21.0	0.8	14.3	52.2	8.1	3.1

В настоящее время наметился рост исследований по расширению сырьевой базы для получения биодизеля, позволяющего полностью или частично заменить дизельное топливо, производимое из нефти, на аналогичное ему по эксплуатационным характеристикам, но экологически предпочтительное биодизельное топливо, представляющее собой метиловые или этиловые эфиры природных жирных кислот. В качестве природного источника таких жирных кислот хорошо зарекомендовали себя рапсовое, подсолнечное, пальмовое и некоторые другие растительные масла, животные жиры. Применение микробных липидов для этой цели практически не обсуждалось. Между тем микробные липиды как экономически выгодное сырьё, получение которого не носит сезонный характер и не требует больших производственных площадей и легко регулируется (по уровню липогенности и по составу жирных кислот), безусловно представляют интерес и как топливные

ресурсы. В настоящей работе проведено сравнение жирнокислотного состава растительных масел и липидов изученных нами микроорганизмов, схожесть показателей по составу, по отсутствию нежелательных примесей серусодержащих соединений, по плотности и вязкости смеси метиловых эфиров жирных кислот позволяют рекомендовать метиловые эфиры жирных кислот *Cunninghamella* для испытаний в качестве биодизеля специалистам по топливу. Важной характеристикой топлива является его теплотворная способность, которая напрямую связана с %-ным содержанием углерода, которое по нашим расчётам находится в пределах 75-80% как для растительного биодизеля, так и для биодизеля на основе липидов *Cunninghamella*.

Актуальной задачей является получение синтетических полимеров – аналогов природных полимеров, встречающихся в каучуконосных растениях. Подобные полимеры используются в шинной и других областях промышленности.

В химическом синтезе аналогов каучуковых полимеров для улучшения качества синтетического полимера используют липидные и белковые компоненты растений, в частности сои. Соя – источник пищевых продуктов и нетипичная культура для сельского хозяйства России. Среди низших мицелиальных грибов по составу классов липидов и жирных кислот аналогом соевого масла, в котором высоко содержание эссенциальных жирных кислот (линолевой, линоленовой) может рассматриваться гриб *p. Pilobolaceae* – *Pilara anomala*, который, как нами было показано (И.В.Конова и др., 2002; Я.Э.Сергеева и др., 2006), является активным синтетиком липидов, содержание которых в среднем составляло около 20%, содержащих в качестве основных компонентов линолевою,  $\gamma$ -линоленовую, олеиновую кислоты, а также  $\beta$ -каротин (табл.3).

Табл.3. Показатели роста и липогенеза *Pilara anomala*

Биомасса, г/л	Липиды, %	$\beta$ -каротин, мкг/г	Жирная кислота, % от суммы жирных кислот										
			C12:0	C14:0	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1
11.6	20.14	263.89	0.2	3.8	0.2	14.2	1.5	4.5	27.4	29.4	16.2	1.4	1.2

В процессе данной работы было показано значительное влияние концентраций экзогенного азота (бактопептона) на выход указанных компонентов липидного пула клеток. Полученные результаты указывают на значительную разницу в величинах биомассы при сравнении вариантов, различных по содержанию азота – 5.1 г/л при концентрации азота 46 мг% и 17.1 г/л при 240 мг% азота. Содержание липидов в биомассе в стационарной и постстационарной фазах развития, составило соответственно 15.4% и 11.9%. Следует отметить, что при увеличении концентрации азота

возрастает суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот (в 1.3 раза), в том числе максимальное содержание эссенциальных жирных кислот в 1.4 раза – с 40.6% до 57.2%, при этом содержание короткоцепочечных жирных кислот снижается (табл.4). Результаты, полученные при расчете выхода эссенциальных кислот (мг/л), показали, что при повышении концентрации азота в среде выход С18-ПНЖК возрастает более чем втрое (с 209.8 мг/л до 780.0 мг/л).

Табл.4. Состав и содержание (% от суммы) жирных кислот *Pilaira anomala* при культивировании на средах с различным содержанием бактопептона.

Концентрация бактопептона (мг% азота)	Жирная кислота, % от суммы жирных кислот						
	С14:0	С16:0	С16:1	С18:0	С18:1	С18:2	С18:3
46	5.8	16.9	2.4	14.0	19.7	23.0	17.6
240	3.2	10.2	2.1	3.6	20.8	30.9	26.3

При исследовании влияния грибных липидов на качество синтетического полимера – аналога природного полимера, получаемого из каучуконосных растений, было показано, что добавление грибных липидов при распределении белковых компонентов полимера приводит к снижению диаметра диспергированных частиц в 2 раза, что в свою очередь приводит к улучшению дисперсности полимерной системы. Добавление грибных липидов в процессе вулканизации полимерных смесей приводит к увеличению прочности резинового образца на 30%. Исследования возможности замены липидов сои грибными липидами продолжаются и на дальнейшем этапе исследования возможности использования грибных липидов как агентов, улучшающих качество синтетических аналогов природных полимеров, продолжаются с участием специалистов шинного производства.

Таким образом, показана возможность замены используемого в качестве биодизеля растительного сырья биомассой грибов *p. Cunninghamella* – *Cunninghamella japonica* и других грибов этого рода, содержащих в клетках значительное количество липидов, в частности триацилглицеридов, с преобладанием олеиновой кислоты. Липиды гриба *p. Pilobolaceae* – *Pilaira anomala* перспективны для использования в химическом синтезе в дефицитных полимеров – аналогов природных полимеров каучуконосных растений. Получение подобных полипреновых соединений актуально для развития шинной и других отраслей отечественной промышленности.

## НОВЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

**Феофилова Е.П.**

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

Слово «биотехнология» появилось в нашей стране в начале 70-х годов прошлого столетия. В современном звучании биотехнология – это промышленное использование продуцентов и агентов на основе получения высокоэффективных форм микроорганизмов, культур клеток и тканей растений и животных с заданными свойствами.

В разработку генно-инженерных методов советские ученые включились уже в 1972 г., когда начался и успешно завершился проект «Ревертаза» – получение в промышленных масштабах обратной транскриптазы. Основными объектами исследований в генной инженерии тогда были бактерии, в основном *E. coli* и *B. subtilis*, хотя при промышленном получении антибиотиков ведущими продуцентами были мицелиальные грибы. Положение значительно изменилось при вступлении человечества в 21 век, когда биотехнологию объявили ведущим направлением. Наряду с эволюционной инженерией и геномным шафлингом все шире стали использовать метаболическую инженерию, а мицелиальные грибы стали значительно шире использоваться в биотехнологических разработках. Этим организмам не случайно уделяется сейчас особое внимание – оказалось, что грибы лучше, чем другие продуценты, удовлетворяют основным требованиям современной биотехнологии: экономичность, воспроизводимость, экологически чистые замкнутые производства, возможность масштабирования, воспроизводимое дешевое сырье, краткосрочные ферментации и др. Но XXI век изменил и отношение к грибам. Если в середине XXго века грибы рассматривали только как заменитель животного белка, то в настоящее время представителей царства Fungi считают готовыми лекарственными препаратами, а биологически активные вещества (БАВ) грибов широко используют в медицине. В этой области грибы оказались настолько востребованными, что появилось новое направление медицины – фармакологическая микология.

XXI век изменил и способ приготовления лекарственных препаратов из грибов. Если ранее здесь присутствовала сплошная эмпирика, то теперь, учитывая назначение препарата, его готовят целенаправленно, используя соответствующие БАВ грибов. Этому способствовали следующие факторы: интенсивное изучение химического состава грибов, повышение уровня технического оснащения, развитие химии природных соединений. В этой части доклада рассматриваются специфические для грибов методы получения БАВ: перекрытие путей метаболизма, «воспитание» спорового посевного материала, вмешательство в гормональную регуляцию полового

процесса грибов, использование закономерностей вторичного метаболизма и применение этих методов для медицинской и пищевой биотехнологий.

Приводятся данные о составе базидиом ряда съедобных грибов и обсуждается использование в медицине трегалозы, маннита и хитин-глюканового комплекса (ХГК). Более подробно обсуждается биотехнология получения и значение ХГК грибов в качестве диетических волокон, интенсифицирующей деятельность желудочно-кишечного тракта, сорбирующих раковые клетки, ионы тяжелых и радиоактивных металлов, снижающих уровень холестерина в крови и препятствующих ожирению. В докладе рассматриваются биотехнология получения и медицинское применение нового препарата Микоран, способствующего заживлению термических ожогов, гнойных ран, трофических язв и пролежней, который создан Институтом микробиологии РАН совместно с Институтом хирургии РАМН им А.В. Вишневского и разрешен к применению в клиниках приказом Минздрава РФ. Большой интерес проявляет в настоящее время медицина к каротиноидам грибов, в последнее время особенно к ликопину, обладающему среди природных соединений наиболее высокой антиоксидантной активностью. Нами разработан способ получения ликопина из грибов, что значительно снизило его стоимость, и созданного на его основе нового природного средства Миколикоспин. Согласно нашим данным, полученным совместно с сотрудниками РОНЦ РАМН, Миколикоспин кроме антиоксидантной обладает также иммуномодулирующей, радиопротекторной, антимуtagenной активностями и значительно задерживает развитие карциномы простаты в опытах на животных, что представляется особенно перспективным, учитывая широкое распространение этого заболевания. Приводятся данные о получении фармацевтически активных препаратов на основе липидов грибов и использование этих организмов для получения возобновляемого сырья в постэнергетическую и постгазовую эры. В заключительной части доклада рассматриваются особенности роста грибной гифы и возможность использования ингибиторов синтеза аминополисахаридов клеточной стенки грибов для создания антимикозных препаратов.

**КОМПЛЕКС БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ЛИПИДОВ,  
ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГРИБА  
MUCOR CIRCINELLOIDES TIEGH. VAR. LUSITANICUS  
(BRUDERL.) SCHIPPER 12M**

*Фунтикова Н.С., Мысякина И.С.*

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

Комплексный препарат биологически активных липидов, источником которых является гриб *Mucor circinelloides var. lusitanicus*, содержит эс-

сенциальные линолевую и гамма-линоленовую кислоты, которые входят в состав ацилсодержащих липидов, и каротиноиды. Основное количество ацилглицеринов составляют фосфолипиды (ФЛ), триацилглицерины (ТАГ), диацилглицерины (ДАГ). Известно, что гамма-линоленовая кислота эффективна для лечения и профилактики атеросклероза и тромбозов; показана ее способность предотвращать развитие диабета 2-го типа и артритов, раковых заболеваний. Кроме этого, липиды, содержащие гамма-линоленовую кислоту, используют для лечения ран, ожогов, атопических дерматитов, в том числе у маленьких детей.

В последние годы появились работы, в которых сообщается, что большое значение имеет форма, в которой жирные кислоты поступают в организм. Показано, что отдельные ацилсодержащие липиды при сходном жирнокислотном составе имеют разную эффективность: полиненасыщенные жирные кислоты в форме диацилглицеринов более эффективны по сравнению с триацилглицеринами для предотвращения развития тромбозов, атеросклероза, развития нарушений липидного обмена и ожирения при диабете 2-го типа. Предполагают, что механизм антитромботического и антиатерогенного эффекта ДАГ вовлекает протекцию васкулярного эндотелия от повреждений, и снижение в крови липопротеинов низкой плотности.

В липидах гриба *M. circinelloides* var. *lusitanicus*, наряду с ТАГ, содержится значительное количество метаболически более активных ДАГ, а также ФЛ. Соотношение разных классов липидов и содержание в них гамма-линоленовой кислоты, зависит от условий выращивания культуры гриба. В препарате липидов, получаемых в стандартизованных условиях при выращивании биомассы мицелиального гриба в периодической культуре с подпиткой источником азота на питательной среде с глюкозой и мочевиной при температуре 27°C, ФЛ составляют 15%. Основную массу фосфолипидов составляют фосфатидилхолин (ФХ) и фосфатидилэтаноламин (ФЭА). Содержание гамма-линоленовой кислоты в ФХ 29–30% от суммы жирных кислот, в ФЭА – 27–29%.

В составе классов нейтральных липидов основными ацилсодержащими фракциями являются ТАГ и ДАГ. Количество ТАГ составляет 45%, ДАГ – 10%, а свободных жирных кислот (СЖК) – 12%. При этом содержание гамма-линоленовой кислоты в сумме жирных кислот ТАГ достигало 20%, в ДАГ – 23%, а в СЖК – 35%.

Каротиноиды в липидах представлены, главным образом, бета-каротином. Бета-каротин является сильнейшим природным антиоксидантом. Его потребление снижает риск развития онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Количество каротиноидов в липидах составляло 350 мг%. Синтез каротиноидов в биомассе гриба стимулировали воздействием дневного света или внесением в питательную среду прооксидантов, при этом их концентрация в липидах достигала 650 мг%.

## ПРИМЕНЕНИЕ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, ПОЛУЧАЕМЫХ ИЗ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

*Ханис А.Ю.<sup>1</sup>, Федоров Ю.Н.<sup>2</sup>*

*1 ЗАО «Фирма Ветзвероцентр»*

*2 ГНУ Всероссийский НИИ экспериментальной  
ветеринарии им. Я.П. Коваленко*

Одной из важнейших функций иммунной системы является сохранение постоянства внутренней среды организма, которая осуществляется путем распознавания и элиминации чужеродных антигенов, несущих на себе признаки генетически чужеродной информации. Реализация этих функций происходит с помощью факторов врожденного и приобретенного иммунитета, к которым относятся нейтрофилы, моноциты/макрофаги, дендритные клетки, НК-клетки и Т-НК-лимфоциты, а также Т- и В-лимфоциты, ответственные за клеточный и гуморальный иммунный ответ. Воздействие на организм чужеродных веществ антигенной природы и неблагоприятных факторов окружающей среды вызывают нарушения функционального состояния иммунной системы, проявляющиеся в виде иммунодефицитов. Коррекция нарушенного состояния иммунной системы осуществляется с помощью иммуностропных лекарственных средств.

В последние годы значительно возрос интерес исследователей и практических специалистов к проблеме иммунокорректирующей терапии и препаратам, воздействующим на иммунную систему животных. Это связано, прежде всего, с усилением экологического неблагополучия и возрастающей нагрузкой на организм животных неблагоприятных антропогенных факторов, существенным ростом иммунодефицитных состояний и пониманием того, что развитие большинства патологических процессов обусловлено нарушением функций иммунной системы. Кроме того, интерес к иммуномодуляторам со стороны практикующих врачей обусловлен возрастающей неэффективностью традиционных методов терапии заболеваний, ростом устойчивости патогенов к традиционным лекарственным средствам (В. М. Манько, Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, 2002).

Терапевтическое и (или) профилактическое применение препаратов химической или биологической природы, обладающих иммуностропной активностью при заболеваниях, связанных с нарушением функций иммунной системы, называется иммунотерапией. Иммунокорректирующие препараты – это лекарственные средства с иммуностропной активностью, которые в определенных дозах восстанавливают нарушенные функции иммунной системы. Основными клеточными мишенями для этих препаратов служат антиген-представляющие клетки (макрофаги, дендритные клетки), распознающие (Т-лимфоциты) и эффекторные (нейтрофильные

фагоциты, моноциты/макрофаги, естественные киллеры, цитотоксические Т-лимфоциты) клетки. Основанием для применения иммуномодуляторов являются вторичные иммунодефициты, которые характеризуются наличием хронических, вялотекущих и трудно поддающихся лечению инфекционно-воспалительных процессов.

Поскольку сегодня стало очевидным, что практически в основе любого патологического процесса лежит нарушение функций иммунной системы, для терапии различного рода иммунодефицитов, возникающих под воздействием инфекционных агентов, неблагоприятных факторов физической или химической природы, ветеринарному врачу необходимо в арсенале лечебных средств иметь препараты, стимулирующие функциональную активность иммунной системы. Лечебные средства, у которых терапевтический эффект связан с преимущественным или селективным действием на иммунную систему, квалифицируются как иммуностропные лекарственные препараты. Они включают три основные группы: иммуномодуляторы (восстанавливают нарушенные функции иммунной системы), иммуностимуляторы (преимущественно усиливают иммунитет) и иммунодепрессанты (подавляют иммунный ответ). Рынок этих препаратов увеличивается с каждым днем, и практическому ветеринарному специалисту не всегда удается разобраться и подобрать эффективное средство в той или иной ситуации.

По химической структуре и биологическим свойствам все иммуномодуляторы можно разделить на несколько групп: иммуноактивные компоненты поверхностных структур бактерий, тимические препараты (гормоны), костно-мозговые регуляторы – миелопептиды или их аналоги, полиэлектролиты, цитокины, нуклеиновые кислоты (В. П. Кузнецов и соавт., 2000; Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, 2003). В действии иммуномодуляторов наиболее важен принцип специфичности. Основным свойством, характеризующим иммуномодуляторы, является их тропизм к иммунной системе, обладание той или иной степенью преимущественного воздействия на иммунную систему (В. М. Манько, Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, 2002).

Среди средств иммунокоррекции из числа природных препаратов ведущее место по широте спектра биологической активности занимают препараты нуклеиновых кислот и продукты их ферментативной деградации. Типичный представитель этой группы – натриевая соль дрожжевой РНК (нуклеинат натрия) не обладает видовой специфичностью, является естественным компонентом организма и лишена побочного действия. Широта спектра биологической активности, возможность перорального применения выгодно отличают этот препарат от других иммуномодуляторов, обладающих воздействием только на отдельные звенья иммунной системы (А.М. Земсков и др., 1982; Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин, 1985).

Нуклеинат натрия – натриевая соль нуклеиновой кислоты, полученная путем гидролиза дрожжей. Активным биологическим компонентом являются нуклеотиды. Препарат обладает широким спектром биологической активности, ускоряет процессы регенерации, стимулирует факторы ес-

тественной резистентности, миграцию и кооперацию Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарную активность нейтрофилов. Нуклеинат натрия стимулирует факторы как врожденного, так и приобретенного иммунитета, активируя пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. Главным фармакологическим свойством нуклеиновых кислот является стимуляция лейкопоэза, процессов регенерации и репарации, функциональной активности практически всех клеток иммунной системы. Препараты этой группы 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-хелперов и Т-киллеров, пролиферацию В-клеток и синтез антител. Натрия нуклеинат обладают антиоксидантными свойствами, что проявляется в его способности удалять из организма свободные радикалы. Установлены иммуномодулирующие свойства препаратов нуклеиновой природы в облученном организме (В.Г.Исаева, 1988). На основе нуклеиновых кислот разработан ряд синтетических препаратов: полудан, инозин, пранобекс, метилурацил и рибоксин. Все препараты из группы нуклеиновых кислот являются выраженными индукторами интерферона.

На основе низкомолекулярных пептидов тимуса и нуклеиновых кислот в ЗАО «Ветзероцентр» создан новый иммунокорректирующий препарат риботан. Препарат сертифицирован и утвержден Департаментом ветеринарии МСХ РФ в установленном порядке. Применение риботана показано при вторичных иммунодефицитах различного генеза. Установлено, что риботан, воздействуя на иммунную систему, повышает антиинфекционную устойчивость организма к заражению патогенными микроорганизмами, способствует профилактике и повышению эффективности терапии при чуме, вирусном энтерите, гепатите, демодекозе и дерматофитозах у плотоядных. Кроме того, риботан стимулирует антителообразование, поэтому при вакцинации животных, особенно с пониженной иммунологической реактивностью, следует использовать риботан. Иммуномодулирующий эффект риботана связан со способностью стимулировать клетки моноцитарно-макрофагальной системы, в результате чего повышается функциональная активность практически всех звеньев защиты организма от инфекции: факторов естественной резистентности и факторов приобретенного иммунитета. Включение риботана в состав базисной терапии улучшает клинико-биохимические показатели гуморального и клеточного иммунитета, предупреждает развитие неблагоприятных исходов. Наши совместные исследования и клинические наблюдения показывают, что при назначении противомикробных средств при явлениях вторичной иммунологической недостаточности следует применять и иммуномодуляторы, такие как риботан. В исследованиях по изучению влияния риботана на антигенные свойства вакцины против вирусного энтерита собак нами показано, что двукратная иммунизация животных с применением риботана вызывает повышение

уровня специфических антител. Многочисленные исследования по оценке иммуотропной активности риботана с использованием адекватных методов иммунологического анализа показали, что он оказывает влияние как на Т- так и на В-систему иммунитета, повышает функциональную активность макрофагов, Т- и В-лимфоцитов. Широкий спектр иммунологической активности риботана связан с тем, что действие пептидов тимуса, входящих в состав препарата и оказывающих влияние преимущественно на клеточные факторы иммунитета, усиливается низкомолекулярными фрагментами дрожжевой РНК. В модельных опытах на мышцах с использованием возбудителей рожи свиней и сальмонеллеза показано, что риботан, воздействуя на иммунную систему, повышает антиинфекционную устойчивость организма к заражению патогенными микроорганизмами.

В настоящее время на основе нуклеината натрия разработан новый иммунокорректирующий препарат нуклевит (ЗАО «Фирма Ветзероцентр» в содружестве с учеными Витебской академии ветеринарной медицины). Он включает в себя нуклеиновые кислоты дрожжевой РНК и витамин С, последний активирует Т -систему иммунитета, способствует усилению процессов фагоцитоза. Кроме того, витамин С является стабилизатором лизосомальных мембран фагоцитов, принимает участие в детоксикации организма, катализирует и регулирует биохимические процессы в организме. Созданный препарат нуклевит, обладает широким спектром биологической активности: вызывает индукцию неспецифической антиинфекционной резистентности, стимулирует естественные факторы иммунитета, анти-токсическую устойчивость, повышает иммунологическую эффективность вакцинных препаратов.

Все выше перечисленные препараты на основе нуклеиновых кислот прошли клинические испытания в установленном порядке, они сертифицированы и довольно широко используются в медицине и ветеринарной практике. Клинические наблюдения ветеринарных специалистов позволяют отобрать наиболее эффективные иммунокорректирующие препараты. При этом в каждом конкретном случае приходится подбирать оптимальные дозы и схемы терапии и профилактики различных заболеваний, определять показания к применению иммунокорректирующих средств с учетом механизма их действия. Практикующие врачи все больше обращаются к применению средств иммунокоррекции, особенно в тех случаях, когда традиционные средства терапии оказываются неэффективными.

**Заключение.** Главной мишенью применения иммуномодулирующих препаратов являются вторичные иммунодефициты различного генеза, которые характеризуются частыми, рецидивирующими, трудно поддающимися лечению 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. Клиницисты считают, что в тех случаях, когда показано применение

антибиотиков, противогрибных, противовирусных средств или других химиотерапевтических препаратов, необходимо назначать и иммуномодуляторы. В проблеме иммунокоррекции у животных имеется много нерешенных вопросов, главный из которых состоит в диагностике иммунодефицитных состояний и обоснованности применения тех или иных препаратов с иммуотропной активностью. Появление в арсенале ветеринарных специалистов иммуотропных препаратов открывает принципиально новые возможности коррекции у животных иммунодефицитных состояний различного генеза, повышает эффективность традиционной терапии и профилактики болезней. Иммуномодуляторы могут применяться как при комплексной терапии, так и в виде монотерапии, особенно в зонах экологического неблагополучия. Развивающиеся тенденции в создании новых эффективных иммуномодуляторов на основе современных технологий (генная инженерия и биотехнология), позволяют надеяться на решение проблемы иммунокоррекции.

## **ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛОНГОЛИТИНА, ПРЕПАРАТА ИЗ *ARTHROBOTRYS LONGA***

***Шаркова Т.С., Серебрякова Т.Н., Подорольская Л.В.,  
Неумывакин Л.В., Хромов И.С., Хохлов Н.В.,  
Агниуллин Я.В., Тарантул В.З.***

*Московский государственный университет, биологический факультет  
Институт молекулярной генетики РАН  
Москва*

Большой интерес к низшим грибам в настоящее время обусловлен их высокопродуктивным и легковоспроизводимым метаболизмом, позволяющим методами биотехнологии получать многие лекарства и препараты.

Ранее мы показали, что такие низшие грибы как *Trichothecium roseum* и *Arthrobotrys longa* в процессе культивирования выделяют в культуральную среду протеазы, обладающие способностью растворять фибрин, фибриноген (основные компоненты тромба), что позволило этим микроорганизмам претендовать на роль возможных источников столь необходимых медицине тромболитических средств.

Модулируя условия культивирования, акцентируя те, которые усиливают активаторные свойства протеаз (способность активировать плазминоген в плазмин – главный фибринолитический фермент в организме человека) мы получили два тромболитических препарата-трихолизин (триаза) и лонголитин. Триаза прошла все клинические испытания и начала использоваться в клинике тромбозов (инфаркт миокарда, инсульт, тромбофлебит) при внутривенном введении. Лонголитин изучается как возможное наружное лекарственное средство для лечения поверхностных неглубоких тромбозов-тромбофлебита, флеботромбоза. В эксперименте был получен хороший

эффект растворения тромбов при наружной аппликации лонголитином обнаженного участка яремной вены у крыс и у кроликов при тромбозе краевой вены уха.

Хорошо известно, что тромбоз обязательно сопровождается воспалительной реакцией: покраснением тромбированной области, отеком, болью, которую необходимо купировать одновременно с тромболитической терапией. Оказалось, что лонголитин обладает умеренным противовоспалительным действием. Противовоспалительному эффекту лонголитина, связанному с тромбообразованием, посвящено данное сообщение.

Тромбы образовывали на краевой вене уха кролика по разработанной нами методике. Металлическими серфинами зажимали сегмент вены 10-12 мм, куда вводили тромбин, формирующий стабилизированный тромб в течение 1-1,5 часа. Сильное длительное сдавливание повреждало окружающие ткани, вызывая их покраснение, отек, нарушая нативный рисунок сосуда. Воспалительные изменения наблюдали и регистрировали от 1,5 ч. до 14 дней. Формировали 4 группы экспериментальных животных, в которых тромбированный участок смазывали только глицерином (1 контрольная группа), либо лонголитином (1 опытная группа), либо гепарином (2 контрольная группа), либо лонголитином с гепарином (2 опытная группа). Смазывание производили каждый час в течение 5 часов в первый день и каждый последующий день в течение 7 дней. Воспаление регистрировали визуально как различные степени покраснения (сильное, умеренное, слабое), величиной и плотностью отека, повреждением рисунка вены, сдавленной тромбозом и отеком.

В первой контрольной группе воспаление протекало наиболее длительно и завершилось от 7 до 15 дней. Лонголитин ускорял восстановление после воспаления до 4-12 дней. Легким противовоспалительным действием по сравнению с глицерином обладал гепарин (5-14 дней). Но наибольший противовоспалительный эффект проявляла смесь лонголитина с гепарином, которая купировала воспаление за 2-10 дней. Таким образом к 7 дню эксперимента в 1 контрольной группе краснота и отек уменьшились на 55% и 50%, что восстанавливало картину поврежденного сосуда на 50%. В 1 опытной группе с лонголитном эти цифры были 80%, 66%, 81%. Во 2 контроле гепарин ослабил воспалительную реакцию на 70%, 59%, 66%. Но наилучший противовоспалительный эффект был во 2 опытной группе с уменьшением красноты на 78%, отека на 75%, восстановлением рисунка сосуда до 83%.

В условиях нашего эксперимента воспалительная реакция провоцировалась 2 воздействиями: тромбозом и сильным длительным механическим сдавливанием тканей металлическими серфинами. Поскольку в 1 и 2 опытных группах с лонголитином и лонголитином с гепарином тромбы растворялись значительно быстрее, а значит, исчезал провоспалительный стимул, то наименьшее время восстановления здесь можно объяснить именно фактом тромболизиса. Однако, именно в этих группах скорее исчезали

воспалительные изменения и в местах сдавливания, что позволяет говорить о лонголитине как о противовоспалительном агенте довольно широкого спектра действия, активного и в ситуациях, где воспаление обусловлено не только тромбозом.

## **ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА СОЕДИНЕНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ**

*Щерба В.В.<sup>1</sup>, Пленина Л.В.<sup>2</sup>, Гвоздкова Т.С.<sup>1</sup>, Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>,  
Лопатенко Ю.С.<sup>2</sup>, Рожкова З.А.<sup>1</sup>, Черноок Т.В.<sup>1</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси*

*2 Республиканское научно-производственное унитарное предприятие  
диагностических и лекарственных препаратов «Диалек»  
Минск, Беларусь*

Физиологически активные соединения грибов привлекают внимание специалистов всего мира. И это естественно: многие из них стали основой широкого спектра антибиотиков, другие – препаратов онкостатического, иммуномодулирующего действия. К концу XX и началу XXI веков были накоплены данные, показывающие, что именно грибы благодаря большой гетерогенности физиолого-биохимических свойств могут стать основными продуцентами в биотехнологии и заменить растения, животных и бактерии. Повышенному интересу к грибам способствовали многочисленные исследования, показавшие, что эти организмы могут стать незаменимыми источниками для получения лекарственных препаратов, имеющих ранозаживляющую, антиспидовую, иммуномодулирующую и особенно антираковую активности. Именно на основании этих достижений к 90-м годам прошлого столетия была создана новая область медицины – фармацевтическая микология.

В настоящее время особое место в царстве грибов занимают грибы с выдающимися целебными свойствами. Пальму первенства разделяют дальневосточные – шии-таке, маитаке и рейши. К ним по эффективности действия можно отнести всем известную вешенку и серно-жёлтый трутовик. Высокое биологическое действие как самой биомассы лекарственных грибов, так и лечебно-профилактических препаратов в определенной степени зависит от наличия в их составе комплекса физиологически активных соединений.

Созданные на основе лекарственных грибов препараты могут выполнять не только функции нутрицевтиков, но и парафармацевтиков, применяемых для профилактики, вспомогательной терапии и поддержки в физиологических границах функциональной активности органов и систем. Отсутствие в рационе питания физиологически функциональных, незаменимых для человека веществ приводит к нарушениям обмена

веществ и, как следствие, к тем или иным заболеваниям. С этой точки зрения необходимо отметить, что наиболее дефицитным компонентом в питании людей является полноценный белок. Белки ряда грибов содержат все 18 аминокислот, входящих в формулу сбалансированного питания, из которых особую ценность представляют незаменимые: лизин, треонин, валин, триптофан, тирозин и др., содержание которых может достигать 30% от общей суммы аминокислот.

Наряду с белком, важное место в питании занимают липиды, причем их ценность тем выше, чем выше содержание в их составе полиненасыщенных жирных кислот. Содержание липидов в мицелии лекарственных грибов может достигать 15-20% и выше. Причем преобладающими жирными кислотами в составе липидов являются полиеновые – олеиновая, линолевая, линоленовая, необходимые для синтеза простагландинов. Не менее ценными среди биологически активных соединений являются углеводы, содержание которых достигает 60% от сухой биомассы грибов. Особую ценность среди углеводных компонентов грибной клетки представляют полисахариды ( $\beta$ -D-глюканы).

Кроме полисахаридов иммуномодулирующей и антиоксидантной активностью обладают каротиноидные пигменты. Гидрофобная природа и наличие делокализованной  $\pi$ -электронной структуры с низким уровнем триплетного возбужденного состояния определяют биологические функции каротиноидов, связанные с антиоксидантной активностью и гашением свободнорадикальных процессов в фосфолипидах и белковых системах, торможением перекисного окисления липидов, а также ингибированием промоторной фазы канцерогенеза. Эти функции, как полагают, и лежат в основе антимуtagenных, радиопротекторных, гипополипидемических, антисклеротических и др. свойств каротиноидов.

Выделенный в культуру съедобный базидиальный гриб *Laetiporus sulphureus* в условиях глубинного культивирования накапливает свыше 10 мг/г сухого мицелия ксантофилов. Кроме того, в мицелии гриба содержится свыше 20% липидов, более 70% полиненасыщенных жирных кислот и др. не менее ценных соединений.

Функциональные препараты на основе грибов производятся и широко используются во многих странах мира. Особую ценность наряду с монопрепаратами представляют композиции на основе двух, трех и более грибов.

Целью наших исследований явилось создание двух композиций, в состав которых вошли ранее отобранные грибы *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*. Грибы выращивали в ферментерах объемом 630 л на соответствующих промышленных питательных средах. На основании исследования биохимического состава мицелия составлены композиции лечебно-профилактических препаратов многофункционального назначения:

### **Композиция 1**

*G. lucidum* БИМ F-323 Д – 30%;

*L. edodes* БИМ F-305 Д – 70%.

**Композиция 2**

G. lucidum БИМ F-323 Д – 40%;

L. edodes БИМ F-305 Д – 40%;

L. sulphureus БИМ F-326 Д – 20%.

По содержанию отдельных компонентов композиция 1 аналогична исходным субстанциям, в композиции 2 несколько снизилось содержание липидов, в то же время повысилось содержание эргостерина и фосфолипидов (табл.).

Таблица. Биохимический состав композиций

Показатели	Композиция	
	№1	№2
Влажность, % от АСБ	5,50	6,10
Общий белок, % от АСБ	32,80-34,00	29,90-30,50
Истинный белок, % от АСБ	17,00-17,20	14,00-15,50
Полисахариды, % от АСБ	11,20	9,20
Каротиноды, мг/г АСБ	-	1,17
Общие липиды, % от АСБ	9,08	12,96
Эргостерин, % от общих липидов	10,91	8,10
Фосфолипиды, % от общих липидов	31,64	20,39
Фенольные соединения, мг%	1746,0-1788,0	861,0-1030,0
АОА, % от инола	84,80-91,30	91,30-93,50

В композициях, как и в субстанциях, преобладающими оказались полиненасыщенные жирные кислоты, содержание которых составило 75-80%. Аминокислотный состав белков композиций аналогичен таковому белков субстанций. Лимитирующие аминокислоты – метионин, цистин.

Разработанные композиции обладают высокой сорбционной активностью по отношению к наиболее опасным металлам-токсикантам – свинцу, кадмию и стронцию и превосходят сорбционную активность коммерческого энтеросорбента «Полифепан». Сорбционный потенциал композиций повышается при регулировании содержания в мицелии структурных полисахаридов, в т.ч. хитина.

В экспериментах *in vivo* на модели тетрахлорметанового токсического гепатита у крыс показана высокая антиоксидантная активность композиций, выявлено их иммуностропное действие.

Хранение препаратов в течение 12 месяцев не приводило к снижению важнейших показателей, в т.ч. антиоксидантной активности.

## **Глава 6**

---

# **КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ГРИБЫ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ И ОПЫТ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

## ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *LAETIPORUS SULPHUREUS* (BULL.: FR.) MURRILL НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ

*Агафонова С.В., Боровский Г.Б., Пензина Т.А., Оленников Д.Н.*  
*Сибирский институт физиологии и биохимии растений, Иркутск*  
*Институт общей и экспериментальной биологии, Улан-Удэ*

Климатические факторы окружающей среды оказывают значительное влияние на физиологические и биохимические процессы грибов. В связи с этим, целью настоящей работы было исследование влияния климатических условий района произрастания на биологическую активность и содержание водорастворимых полисахаридов (ВРПС) в плодовых телах *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murril.

Вид *L. sulphureus* широко распространен в лиственных и смешанных лесах Прибайкалья. Дикий штамм съедобен, легко выделяется в культуру, в короткий срок образует большую биомассу.

Для эксперимента были выбраны площадки опробования (ПО) в трех районах Иркутской области, географически удаленных и климатически отличных друг от друга. При выборе ПО учитывались различия в параметрах климатических факторов: влажность воздуха, количество осадков, температурный режим, солнечная радиация. На площадках были собраны плодовые тела и выделены чистые культуры из них.

Биологическая активность оценивалась по величине антиоксидантной активности (АОА). Извлечения получали водной экстракцией согласно Государственной фармакопее XI (гидромодуль 1:10, 100°C, 30 мин). Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Wistar с массой 210-260 г. Окислительный стресс вызывали токсическим поражением печени путем введения 50% масляного раствора  $CCl_4$  в объеме 0,5мл/100 г массы животного (однократно, подкожно). Экстракты из плодовых тел *L. sulphureus* вводили внутривентриально в дозе 1мл/100г живого веса (в пересчете на воздушно-сухое сырье) через 1.5 часа после введения  $CCl_4$ . Крыс забивали декапитацией на 3 сутки с момента операции и начала введения  $CCl_4$ . Уровень АОА оценивали по концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови животных (ТБК-активные продукты). В результате исследования установлено, что АОА извлечений из плодовых тел *L. sulphureus* может различаться в 1.6-2.0 раза в зависимости от условий произрастания гриба, что подтверждает обоснованность предположения о влиянии гидротермического фактора на биологическую активность.

Для выяснения возможного влияния штаммовых различий на накопление биологически активных соединений (БАС) в плодовых телах *L. sulphureus*

на выбранных ПО был высажен штамм №3, проявивший в эксперименте наиболее высокий уровень АОА.

Наращивание мицелия на древесных дисках проводили в термостате, при температуре 25°C в течение 45 дней. В начале июня обросшие мицелием диски доставляли на ПО. В образовавшихся на дисках плодовых телах определяли содержание ВРПС, так как известно, что именно они являются БАС большинства медицинских препаратов, получаемых из базидиомицетов.

Комплекс ВРПС – гетерогенен и представляет собой смесь β-глюканов с  $M \sim 4-8 \cdot 10^5$  Да, содержащих кроме глюкозы галактозу, арабинозу и фукозу, а так же в минорных количествах ксилозу, арабинозу и рамнозу. Содержание ВРПС в плодовых телах одного штамма может варьировать от 0.87% до 2.15% в зависимости от климатических условий районов произрастания, а также находится в прямой зависимости с уровнем АОА.

## **РАЗНООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ FLAMMULINA VELUTIPES(CURTIS:FR.)SINGER – ОСНОВА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ**

*Бабаянц О.В., Залогина М.А.*

*Селекционно-генетический институт – НЦ СЕИС УААН  
Одесса, Украина*

Грибы с давних пор сопровождают человека по жизни. Велика и неоспорима их роль как ценного продукта питания, но еще большее значение они представляют как потенциальные продуценты биологически активных веществ с лечебными свойствами. Использование грибов в нетрадиционной и народной медицине имеет глубокие корни, которые в наше время «прорастают» и в ортодоксальной медицинской науке. Наиболее перспективно и безопасно использовать макромицеты либо съедобные, либо такие, которые не образуют токсичные продукты в процессе жизнедеятельности.

В лаборатории микологии отдела фитопатологии и энтомологии Селекционно-генетического института в последние 8 лет проводятся всесторонние исследования микобиоты – как природной, так и коллекционной. Коллекция ценных видов- макромицетов составляет более 500 штаммов.

Одним из объектов наших исследований стал удивительный гриб – Фламмулина бархатистоногая (*Flammulina velutipes*), имеющий названия эноки-таке, опёнок зимний, зимний гриб. Одним из главных достоинств этого гриба являются его целебные свойства. Как показано учеными Японии (страна, прославившаяся исследованиями в области фунготерапии), в плодовых телах опёнка зимнего содержится вещество фламмулин, способное останавливать развитие злокачественного процесса в организме человека. Явно выраженное противоопухолевое действие опёнка зимнего сосредото-

чено на моче-половую сферу человека, особенно эффективно применение плодовых тел для профилактики аденомы предстательной железы или даже злокачественного её перерождения. Из опёнка зимнего также выделены вещества, обладающие иммуномодулирующими свойствами. Наблюдениями врачей – натуропатов Тайваня установлено, что употребление в пищу 3-4 раза в неделю супчика из опёнка зимнего способно остановить развитие аденомы предстательной железы ( на начальных этапах развития) за 5-6 месяцев, а за 8-12 месяцев ( в зависимости от тяжести процесса) ликвидировать злокачественность проявления заболевания.

Целью данной работы было отобрать из имеющихся изолятов наиболее привлекательные для селекционной работы и получить стабильный по всем показателям сорт, который возможно будет использовать для получения ценного сырья для фармацевтики.

Фламмулина бархатистоногая достаточно часто встречается в зоне южной степи Украины. Растёт он на пеньках, полувысохших деревьях всевозможных пород, причём встречается всюду – в лесу, лесополосах, парках, в городской черте. Сигналом к плодоношению этого славного грибочка всегда являются заморозки. Плодоносит осенью и зимой, реже – весной. Как показали наши наблюдения, штаммы опенка зимнего достоверно отличаются по чувствительности к длине светового дня. До 70% выделенных изолятов предпочитали короткий световой день и пониженную температуру воздуха. 20% изолятов плодоносили исключительно после того, как день составил не менее 10 часов. Остальные 10% изолятов были способны образовывать плодовые тела в широком диапазоне этого показателя.

В лабораторных условиях 45 наиболее отличающихся друг от друга по морфологическим и биологическим свойствам изолятов опенка зимнего, притом выделенных с различных субстратов, испытывали по следующим показателям: на чувствительность к заморозкам, на урожайность при выращивании в условиях искусственного климата, на накопление биомассы и протеина при выращивании в жидкой питательной среде.

В таблице приведены наиболее интересные результаты, которые помогли отобрать штаммы фламмулины с самой высокой урожайностью и с наиболее интенсивным накоплением биомассы.

Таблица. Характеристика диких изолятов *Flammulina velutipes* по урожайности, накоплению биомассы и белка.

Изолят, № коллекции	Урожайность, г/100г сухого в-ва субстрата, 25 сутки (1 волна)	Накопление биомассы, г/л, 12 сутки,	Белок, мг/мл
<i>Flammulina velutipes</i> 721K, st	57,9±1,2	6,53±0,03	1,26
F.v. 721 best line	91,1 ±0,9	7,14±0,09	1,31
F.v. dik/ailant1	67,4±1,0	6,25±0,07	1,41
F.v. dik/ailant2	34,5±1,1	5,97±0,03	1,27

F.v. dik/DD1	37,8±1,3	4,86±0,11	1,15
F.v. dik/DD2	44,8±1,3	5,12±0,07	1,45
F.v. dik/Sm1	39,9±0,8	4,99±0,02	1,39
F.v. dik/infb1	59,6±0,9	6,77±0,09	1,56
F.v. dik/populus 04	56,9±0,9	6,79±0,11	2,00
F.v. dik/Mashen'ka	93,4±1,0	14,51±0,08	2,15
F.v. dik/juglans1	87,6±0,7	9,23±0,03	2,13
F.v. dik/gledich5	69,3±0,7	6,89±0,06	2,01
F.v. dik/mkcult2	71,4±0,8	7,01±0,02	2,03
F.v. dik/prunus8	55,5±1,2	7,04±0,01	1,98

Штамм *Flammulina velutipes* 721K, st – коллекционный штамм, стандарт. В условиях выращивания на растительных субстратах он проявляет стабильность как в количественном отношении (урожайность), так и в неприхотливости ко внешним условиям. Для получения базидиом нет необходимости в проморозке блоков, плодоношение наступает при снижении температуры окружающей среды до 12°C, стабильно накапливает биомассу в жидкой полусинтетической среде. Высоко конкурентноспособен по отношению к патогенным микромицетам, которые случаются в субстратных материалах, активно подавляет развитие бактерий и грибов рода *Trichoderma*. На основе скрещивания этого штамма и природного изолята *F.v. dik/Mashen'ka* (выделен с дикой шелковицы в пойме реки Днестр) в СГИ создан сорт опенка зимнего «Машенька», который сейчас проходит производственные испытания и готовится для передачи в Государственный реестр сортов растений, рекомендованных для распространения в Украине. Изолят *F.v. dik/Mashen'ka* – один из самых высокоурожайных, наиболее интенсивно накапливает биомассу в жидкой полусинтетической среде и лучший по содержанию протеина, однако, у него очень высокая чувствительность к длине светового дня и обязательное требование проморозки для получения базидиом. Проведя ступенчатое скрещивание его с коллекционным штаммом *Flammulina velutipes* 721K, st, о чем сообщено выше, нам удалось отобрать наиболее стабильные моноизоляты, получить F<sub>1</sub>, отобрать из него лучшие, получить F<sub>2</sub>, и в результате в сорте «Машенька» соединить лучшие качества двух изолятов. По устойчивости к возбудителям болезней этому сорту нет равных.

Селекция наиболее ценных лечебных и съедобных макромицетов в Селекционно-генетическом институте – раздел одной из государственных научных тематик. Впервые в Украине в Государственном реестре сортов растений Украины появились сорта *Pleurotus ostreatus* – Вешенки обыкновенной (10 сортов) и четыре сорта *Lentinus edodes* – Шийтаке.

Сорт опенка зимнего «Машенька» – перспективный, первый в Украине сорт этого вида. В процессе разработки – ряд других сортов.

## CORDYCEPS MILITARIS – ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

*Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Гвоздкова Т.С.<sup>1</sup>, Бисько Н.А.<sup>2</sup>,  
Рожкова З.А.<sup>1</sup>, Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Осадчая О.В.<sup>1</sup>, Поединок Н.Л.<sup>2</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск*

*2 Институт ботаники НАН Украины, Киев*

В нынешней неблагоприятной экологической ситуации особую актуальность приобретает разработка средств, повышающих устойчивость организма к вредным воздействиям внешней среды. Перспективными источниками для их получения являются мицелиальные грибы *Lentinus edodes*, *Ganoderma spp.*, *Flammulina velutipes*, *Tremella faciformis*, *Hericium erinaceum*, *Poria cocos* и др., обладающие противоопухолевой, гипогликемической, антимикробной активностью, способные стимулировать иммунную систему, регулировать нервную систему, эффективные против заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Особый интерес представляют грибы рода *Cordyceps* – применяемые в Китае на протяжении 1200 лет в качестве универсального средства для укрепления организма и профилактики различных заболеваний. В народной медицине Китая, Японии, Кореи, Малайзии применяются *C. militaris*, *C. sinensis*, *C. sobolifera*, *C. ophioglossoides* и др.

*C. militaris* обитает в лесах Азии, Европы и Северной Америки, считается очень редким видом. Является энтомопатогенным грибом, паразитирующим на гусеницах и куколках бабочек. В народной медицине Китая используют плодовое тело гриба, и наполненное мицелием тело гусеницы.

Соединения, входящие в состав этого лекарственного гриба, улучшают состояние иммунной системы, усиливают резистентность к различным патогенным бактериям и другим микроорганизмам, оказывают противоопухолевое действие, повышают адаптационные возможности организма, обладают антиоксидантной активностью и препятствуют процессам старения, гармонизируют обменные процессы. Кордицепс также благотворно влияет на нервную, эндокринную, дыхательную и половую системы, обладает антиаритмическим и гипотензивным действием, понижает содержание холестерина, улучшает микроциркуляцию и препятствует тромбообразованию. Применяется при заболеваниях легких и почек, хроническом бронхите, нехватке жизненной энергии, гиперлипидемии, циррозе печени, ослаблении полового влечения, импотенции. Регулярное употребление кордицепса способствует повышению устойчивости к инфекционным заболеваниям, применяется после истощения и длительной болезни. Известны публикации, согласно которым в рацион китайских спортсменов при подготовке к олимпийским играм и мировым чемпионатам обязательно включали кордицепс.

Биологическое действие кордицепса определяют, в первую очередь, иммуномодулирующие полисахариды ( $\beta$ -D-глюканы), активирующие им-

мунные клетки, увеличивающие продукцию цитокинов и интерферона, а также другие производные сахаров, такие как кордицепсовая кислота (D-маннитол). Противоопухолевое действие полисахаридов кордицепса связано с повышением иммунитета организма. Препараты кордицепса, как и другие грибные полисахариды (PSP, PSK, АНСС, лентинан, арабиноксиланы), уменьшают тяжесть и продолжительность побочных эффектов, связанных с хемо- и радиотерапией.

Цель исследований – изучение биохимического состава глубинного мицелия гриба, выращенного на глюкозо-пептонной среде.

Общий выход биомассы у *C. militaris* составил 10,0-12,0 г/л, общий белок – 23,0- 24,5%. Отличительной чертой этого гриба явилось относительно высокое содержание в его мицелии общих липидов – более 15%, в составе которых на долю фосфолипидной фракции приходится до 21,2% или свыше 3% от АСБ. В мицелии отмечено высокое содержание эргостерина – до 2 % от АСБ. Характерной особенностью жирнокислотного состава липидов гриба *C. militaris* оказалось низкое содержание эссенциальной линолевой кислоты (до 10%). Как показали исследования, синтез ненасыщенных жирных кислот идет у этого гриба по пути преимущественного образования олеиновой кислоты, удельный вес которой в составе жирных кислот липидов составляет более 50%. Мицелий *C. militaris* является прекрасным источником полисахаридов, по содержанию которых (свыше 10 % от АСБ) не уступает таким истинным продуцентам, как *G. lucidum*, *L. edodes* и *T. versicolor*.

Для выявления потенциальных возможностей гриба проверено влияние различных источников углеродного питания на его рост, выход общих липидов и фосфолипидов, на жирнокислотный состав липидов. Лучшими источниками, способствующими одновременно активному накоплению биомассы (11,0-13,0 г/л), липидов (12-17% от АСБ) и фосфолипидов (2,0-3,5% от АСБ) оказались глюкоза, сахароза и меласса. При выращивании гриба на средах с лактозой и крахмалом отмечалось снижение до 7,0-9,0 г/л биомассы и до 11% липидов. Однако наиболее существенные изменения наблюдались в составе жирных кислот липидов (табл.).

Таблица. Влияние источника углерода на жирнокислотный состав липидов гриба *C. militaris*

Жирные кислоты	Источник углерода				
	глюкоза	лактоза	сахароза	меласса	крахмал
C14:0	следы	-	-	-	следы
C15:0	0,40	12,44	2,64	12,98	3,50
C16:0	25,32	37,93	35,30	18,02	16,42
C16:1	0,62	сл.	0,34	0,64	0,49
C18:0	0,97	сл.	0,48	2,27	0,42
C18:1	66,09	21,70	56,07	58,02	75,93

C18:2	6,60	27,93	5,17	8,07	3,24
Σ1 ненасыщенных	73,31	49,63	61,58	66,73	79,66
Σ2 насыщенных	26,69	50,37	38,42	33,27	20,34
Отношение Σ1/ Σ2	2,75	0,98	1,60	2,00	3,92
К ненасыщенности	0,79	0,77	0,66	0,74	0,83

Преобладающими оказались C16:0 и C18:1 кислоты. Особенно высоким был удельный вес моноеновой олеиновой кислоты (56-76%). Синтез же линолевой кислоты (C18:2) в липидах гриба был несколько подавлен. Относительное содержание ее колебалось и составило 3,2-27,9 %. Существенная перестройка метаболизма жирных кислот липидов произошла при выращивании гриба на среде с лактозой: в составе жирных кислот резко сократилась доля моноеновой олеиновой кислоты (более чем в 2,3-3,0 раза) и увеличилось содержание диеновой линолевой кислоты (до 27,93%). Значительно возросло и количество насыщенных пальмитиновой и пентадекановой кислот. Высокое содержание пентадекановой кислоты гриб синтезировал и на среде с мелассой. Однако практически во всех случаях в липидах гриба преобладают ненасыщенные жирные кислоты (62-80%).

Наиболее активный рост гриба и синтез им физиологически активных соединений происходил при pH 5,0-6,0. Подбор источников углеродного питания позволил оптимизировать промышленные питательные среды. Лучшими оказались: сыворотка молочная + кукурузная мука, сыворотка молочная + ржаная мука или меласса. Урожай биомассы при выращивании на этих средах достигал 16,0-17,0 г/л, выход экзополисахаридов – 5,0-6,0 г/л, эндополисахаридов – 11-12%.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПАРАМЕТРЫ РОСТА МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ КОПРИНОИДНЫХ ГРИБОВ

*Бадалян С.М.<sup>1</sup>, Аветисян Г.К.<sup>1</sup>, Кьюз У.<sup>2</sup>*

*1 Лаборатория Биологии и биотехнологии грибов,  
Ереванский государственный университет, Армения*

*2 Институт лесной ботаники,  
Джордж-Август Университет Геттингена, Германия*

В связи с развитием биотехнологии интерес к биоактивным соединениям грибного происхождения с антиоксидантным, антиопухолевым, фибринолитическим, антифунгальным, антипротозойным и др. действием значительно повысился. Природными источниками биоактивных соединений являются и коприноидные грибы. Они широко используются для изучения основополагающих вопросов по физиологии и развитию базидиомицетов,

в обработке промышленных водных, древесных и растительных отходов, а также в сельском хозяйстве с целью повышения пищевой ценности корма для скота и т.д. Важным этапом для налаживания их биотехнологического культивирования является определение морфологических признаков и ростовых параметров мицелия этих грибов. С этой целью были исследованы 35 штаммов 13 видов коприноидных грибов, относящихся к четырем ново-выделенным клатам: *Coprinus* (*C. comatus* 6 штаммов), *Coprinellus* (*C. curtus* 2 шт., *C. disseminatus* 2 шт., *C. domesticus* 1 шт., *C. ellisii* 1 шт., *C. micaceus* 10 шт., *C. radians* 2 шт., *C. xanthothrix* 3 шт.), *Coprinopsis* (*C. cinerea* 4 шт., *C. radiata* 1 шт.), *Parasola* (*P. plicatilis* 1 шт.) и два неидентифицированных вида *C. sp.* (шт. L3C, C35). Были изучены макроморфологические особенности (текстура и форма колоний, пигментация мицелия и реверзума, наличие экссудата, особенности плодообразования и др.) и параметры роста (скорость роста – СР, ростовой коэффициент – РК) мицелия на различных питательных средах: сусло-агар (СА), картофельно-декстрозный агар (КДА) и глюкозо-пептонный агар (ГПА) при 25°C. Результаты были зафиксированы на 6-ые сутки роста. Наблюдения продолжались в течение месяца. Наличие лакказы было определено по шестибальной шкале интенсивности окрашивания  $\alpha$ -нафтолом, гваяколом и сирингалдазином (*Soponsathien*, 1998). Микроморфологические признаки мицелия исследовались методом его выращивания на покровных стеклах (*Badalyan, Sakeyan*, 2004). При этом описывались наличие, частота и форма пряжек, кристаллов оксалата кальция, митоспор, гифальных петель и цистид, а также других мицелиальных структур. Чистые культуры коприноидных грибов хранятся под номерами каталога в лаборатории Биологии и биотехнологии грибов Ереванского государственного университета (*Badalyan et al.*, 2005).

Большинство исследованных коприноидных грибов формировали хорошо развитые колонии на среде СА. Войлочная колония с шерстистым воздушным мицелием была свойственна для видов *C. radiata*, *C. cinerea*, *C. xanthothrix*, *C. domesticus*, *C. radians* и *C. sp.* (шт. C35, L3C). Приподнятый воздушный мицелий был характерен для видов *C. comatus*, *C. disseminatus*, *P. plicatilis* и *C. micaceus*. У последнего вида в поздние сроки роста мицелий в центре колонии становился приплюснутым. Сравнительно слабо развитый войлочный мицелий был характерен для видов *C. curtus* и *C. ellisii*.

На КДА исследованные виды/штаммы формировали более плотные колонии, иногда с уплотненными мицелиальными пучками (*C. micaceus*, *C. comatus*). Среда ГПА оказалась неблагоприятной для роста культур.

Наличие желто-оранжево-бурой пигментации мицелия и реверзума было характерно для большинства исследованных видов/штаммов на среде СА. На средах КДА и ГПА наблюдалась более интенсивная пигментация. Характерные желтые капли экссудата были отмечены на мицелии *C. disseminatus* и *C. micaceus*.

По значению СР исследованные виды/штаммы были разделены на три группы: быстрорастущие (СР>11.7 мм/сут), растущие со средней скоростью (СР=11.7-7.2 мм/сут) и медленно растущие (СР<7.2 мм/сут) (табл.).

Таблица. Количество коприноидных видов/штаммов по ростовым параметрам на различных питательных средах

Группы видов/штаммов	Питательные среды					
	СА		КДА		ГПА	
	СР	РК	СР	РК	СР	РК
Быстрорастущая (СР>11.7 мм/сут, РК>100)	11/3	3/4	4/9	4/13	0	0
Растущая со средней скоростью (СР=11.7-7.2 мм/сут, РК=100-40)	4/5	8/28	9/25	8/19	4/14	1/6
Медленно растущая (СР<7.2 мм/сут, РК<40)	0	2/3	1/1	2/3	10/18	12/26

По показателям СР мицелия первая группа была многочисленной на СА, затем на КДА и отсутствовала на ГПА. Между тем, большое количество видов/штаммов росли со средней скоростью на КДА и оказались медленно растущими на ГПА.

Исследованные культуры по значению РК также были разделены на три группы: первая с РК>100, вторая с РК=100-40 и третья с РК<40 (табл.). На средах СА и КДА диапазон РК в пределах 40-100 отмечался у большинства исследованных культур, тогда как на ГПА показатели РК колоний имели значения ниже 40.

Образование плодовых тел было отмечено в культурах *C. curtus*, *C. ellisii*, *C. xanthothrix*, *C. cinerea*, *C. sp.* (С35). Мицелий *P. plicatilis* формировал примордии, а *C. cinerea* – склероции.

У большинства видов, кроме *C. ellisii* и *C. xanthothrix*, реакция на лакказу была положительной. Выраженная активность отмечалась у *C. disseminatus*, *C. micaceus*, *C. sp.* (С35), затем у *C. comatus*, *P. plicatilis* и *C. curtus*. Слабая реакция на наличие лакказы наблюдалась у *C. radians*, *C. cinerea*, *C. radiata*, *C. sp.* (L3C) и *C. domesticus*.

Мицелиальные пряжки были описаны у 5 из 13 исследованных видов. У *C. comatus*, *C. micaceus* они были частые, у *C. disseminatus* нечастые одно-сторонние, округлые с зазором и без. Односторонние, овальные, нечастые пряжки без зазора были характерны для *C. curtus*, маленькие, частые – для *C. cinerea*. Пряжки отсутствовали у *C. radiata*, *C. domesticus*, *C. ellisii*, *C. radians*, *C. xanthothrix*, *P. plicatilis* и *C. sp.* (шт. L3C, С35). Многочисленные артроспоры были обнаружены в культурах *C. cinerea*, *C. ellisii*, *C. xanthothrix*, *C. domesticus*, *C. sp.* (С35), причем у последних четырех видов они отмечались на дифференцированных симподиально разветвленных конидиогенных гифах. Терминальные и интеркалярные хламидоспоры были характерны для видов *C. comatus*, *C. cinerea*, *C. micaceus*, *C. radians* и *P. plicatilis*. Для мицелия *C. curtus* были описаны древовидные гифальные структуры,

*C. xanthothrix* – глеоцистиды, *C. micaceus* – цистиды, *C. cinerea*, *P. plicatilis* – вздутые клетки, *C. radians*, *C. sp.* (L3C) – аллоцистиды. Во всех культурах были отмечены гифальные петли разных размеров, а также игольчатые и/или прямоугольные кристаллы. В культуре *C. ellisii* были найдены крупные тетраэдрические кристаллы, как на гифах, так и в среде.

Выявленные особенности характера и параметров роста культур некоторых коприноидных грибов, а также их микроморфологические признаки будут способствовать дальнейшему налаживанию биотехнологического культивирования их мицелия.

## КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ ЛЕ (БИН) НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ РАЗВИТИЯ

*Белова Н.В., Псурцева Н.В.*

*Ботанический институт им. В.Л.Комарова, Санкт-Петербург*

Значение грибов для поддержания жизни на земле трудно переоценить. Вместе с растениями и животными они выполняют важную функцию в циклах химических элементов в биосфере. В то же время, результат их жизнедеятельности, и в частности биосинтетической активности базидиомицетов, чрезвычайно востребован в качестве пищевых продуктов, биологически активных добавок и медицинских препаратов.

Базидиомицеты составляют важный компонент биологического разнообразия планеты в целом, и его значительный генетический пул должен быть сохранен и использован. На мицелиальной (вегетативной) стадии развития базидиомицеты успешно сохраняются и поддерживаются в коллекциях культур, которые уже многие годы являются надежными хранилищами генетических ресурсов природной микобиоты.

Подобно грибу *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn, сыгравшему важную роль в формировании и развитии коллекций культур микроорганизмов в Японии, базидиальный гриб *Inonotus obliquus* (Persoon: Fries) Pilat, чья стерильная мицелиальная форма «чага» хорошо известна россиянам, явился «виновником» создания Коллекции культур базидиомицетов в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова в 50-е годы прошлого столетия. Среди поддерживаемых в Коллекции культур грибов – съедобные и ядовитые, активные дереворазрушители и микоризообразователи, многие из которых могут представлять интерес для медицины.

Особенность деятельности Коллекции культур базидиомицетов ЛЕ (БИН) связана с тем, что она сформировалась и работает в Лаборатории биохимии грибов БИН РАН. Сотрудникам Лаборатории удалось сохранить в перестроенный период коллекционный фонд, благодаря участию в исследованиях по программе «Биологическое разнообразие». Эта работа, проходившая в содружестве с отечественными и зарубежными коллегами-систематиками,

позволила значительно обновить и увеличить поддерживаемый генофонд базидиомицетов.

За полувековую историю Коллекция ЛЕ (БИН), известная как коллекция, поддерживающая культуры биологически активных видов шляпочных грибов, превратилась в Специализированную коллекцию, сохраняющую чистые культуры почти десятой части видов природной микобиоты макромицетов России. Коллекционный фонд поддерживается методом субкультуры в двух вариантах. В настоящее время в Коллекции представлено 1800 культур почти 530 видов базидиомицетов из 200 родов, 55 семейств и 24 порядков. Ряд штаммов Коллекции, в том числе микоризных базидиомицетов верифицирован на основе молекулярно-генетических исследований. Однако эти методы пока не вошли в практику обязательного применения при идентификации коллекционных культур. К сожалению, современное хранение культур при низких температурах до сих пор недоступно для Коллекции, в то время как международные нормы поддержания культур, а также процедура депонирования требуют использование метода криоконсервации. С 2005 года коллекционный фонд вместе с Лабораторией биохимии грибов располагается в новом корпусе Микологии БИН РАН.

Целевую краткосрочную поддержку Коллекция получила лишь в 80е годы прошлого века, когда участвовала в международной программе «Микробные ресурсы». Это позволило создать базу данных о свойствах штаммов Коллекции, которая продолжает развиваться и в настоящее время. На её основе создана обновленная электронная версия Каталога культур базидиомицетов на английском языке. В настоящее время подготовлено к публикации второе издание Каталога.

Несмотря на всероссийскую и международную известность, статус Коллекции в России никогда не был оформлен правовыми документами, хотя еще в 80е годы прошлого века она была наделена правом депонирования. Следует отметить, что и в Украине, и в Армении подобные коллекции имеют статус «Национальное достояние».

Хочется надеяться, что нормативно-правовое оформление и целевое финансирование Коллекции ЛЕ (БИН) не только будут способствовать улучшению её деятельности, но и создадут условия для её интеграции в европейские и мировые организации – Европейскую Организацию Коллекций Культур (ЕССО) и Всемирную Федерацию Коллекций Культур микроорганизмов (WFCC).

*В значительной степени сохранению и развитию Коллекции ЛЕ (БИН) способствовала поддержка исследований по сохранению разнообразия макромицетов ex situ: РФФИ – гранты №№ 97-04-49621, 99-04-49825, 03-04-49604, 03-04-63156, 04-04-49813, 05-04-63126; ИНТАС – грант № 03-51-5889; программы ОБН РАН «Фундаментальные основы управление биологическими ресурсами» и ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 гг.*

## ОСОБЕННОСТИ РОСТА БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА *CORIOLUS* QUEL. В ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЕ

Бисько Н.А.<sup>1</sup>, Клечак И.Р.<sup>2</sup>, Антоненко Л.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины

<sup>2</sup> Национальный технический университет Украины

«Киевский политехнический институт»

Киев

Практическое воплощение новых грибных биотехнологий в отечественное грибоводство требует расширения фундаментальных знаний о биологических свойствах перспективных культур базидиальных грибов, для которых отмечена высокая скорость роста на средах, в состав которых входят разные отходы пищевого производства, в частности сахарной, молочной и крахмало-паточной промышленности. В этом аспекте внимание исследователей привлекают базидиальные грибы рода *Coriolus*, издавна применяющиеся в восточной медицине как общеукрепляющие средства. Следует отметить, что современные медицинские исследования подтвердили наличие у базидиомицетов рода *Coriolus* иммуномодулирующих, гепатопротекторных, противоопухолевых, антивирусных и антибактериальных свойств.

Целью нашей работы было исследование динамики изменения концентрации биомассы, накопления экзополисахаридов и изменения концентрации ионов водорода (рН) при культивировании в глубинной культуре штаммов *Coriolus zonatus* 1525 и *C. versicolor* 353 из Коллекции культур шляпочных грибов отдела микологии Института ботаники им.Н.Г.Холодного НАН Украины (Бухало, Митропольская, 2001). Эти штаммы были отобраны в предыдущих исследованиях, где они показали высокую скорость радиального роста (VR, мм/сутки) на агаризованных средах.

Для определения уровня накопления биомассы и экзополисахаридов было проведено глубинное культивирование на молочной сыворотке и глюкозо-пептонной среде в колбах Эрленмейера объемом 250 мл на качалках с интенсивностью перемешивания 150 об/мин, при температуре 28°C.

Имеющаяся в литературе информация (Горшина, 2001) свидетельствует о том, что базидиомицеты рода *Coriolus* при глубинном культивировании способны активно расти в широком диапазоне рН (от 3,5 до 7,5), но оптимальные значения рН имеют видовые и штаммовые различия.

Исследования показали, что для *C. versicolor* 353 и *C.zonatus* 1525 активный рост мицелия наблюдался в диапазоне начальных значений рН среды от 4,2 до 7,5. Диапазон рН от 3,5 до 4,0 был не благоприятен для роста *C. versicolor* 353 и *C. zonatus* 1525 в глубинной культуре на исследованных средах. Наибольший выход биомассы наблюдался при исходном рН 6,0-6,5.

По результатам экспериментов максимальное накопление биомассы исследованными культурами на обеих средах наблюдалось на 5-6 сутки культивирования. На молочной сыворотке этот показатель составил 18,8 г/л для *C. versicolor* 353 и 18,2 г/л для штамма *C. zonatus* 1525.

На синтетической глюкозо-пептонной среде максимальное накопление биомассы составляло 21,4 г/л для штамма *C. versicolor* 353 и 20,0 г/л для *C. zonatus* 1525.

Максимальный биосинтез экзополисахаридов исследованными культурами на обеих средах наблюдался на 6-7 сутки культивирования. Установлено, что на молочной сыворотке этот показатель составлял 1,53 г/л для *C. versicolor* 353 и 1,64 г/л для *C. zonatus* 1525. На глюкозо-пептонной среде максимальное накопление экзополисахаридов исследуемыми штаммами составляло 1,34 г/л для *C. versicolor* 353 и 1,10 г/л для *C. zonatus* 1525, что соответствует данным литературы относительно других штаммов видов *C. versicolor* и *C. zonatus* (Babitskaya, Scherba et al., 2000).

Полученные результаты дополняют информацию об особенностях биосинтетической активности базидиальных грибов рода *Coriolus* при культивировании на молочной сыворотке и глюкозо-пептонной среде и позволяют рассматривать их как перспективные объекты для дальнейших научных исследований.

## **ВЛИЯНИЕ СЪЕДОБНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА СИИТАКЕ /LENTINUS EDODES (BERK.) SING./ НА СИСТЕМУ ОКСИДАЗНОЙ ЗАЩИТЫ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ**

*Бисько Н.А., Митропольская Н.Ю., Билай В.Т.*  
*Институт ботаники им. Н.Г.Холодного НАН Украины*  
*Киев*

Влияние съедобного лекарственного гриба сиитаке (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.) на систему оксидазной защиты теплокровных животных изучалось на примере беспородных белых крыс.

Исследовались плодовые тела сиитаке (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing), выращенные на адаптированном для условий Украины опилочном субстрате (Фомина с соавт., 1999). Грибы были высушены и измельчены в порошок. Тест-объектами были беспородные белые крысы в количестве 80 особей. Программа исследований составлена в соответствии с рекомендациями комиссии по координации работ в области получения безопасных продуктов питания объединенного комитета ФАО/ВОЗ. За основу принят полусинтетический рацион, рекомендованный Институтом питания АМН России.

Проведение биохимических исследований выявило, что при введении в рацион крыс сухого порошка сиитаке в количестве 5, 10 и 25% на протяже-

нии 1,3 и 6 месяцев не зафиксировано нарушений активности ферментов переаминирования, принимающих участие в синтезе аминокислот и углеводных цепей, как на начальных этапах кормления животных, так и в конце шестимесячного эксперимента.

Порошок сиитаке оказывал дестабилизирующее влияние на активность каталазы цитозоля печени, играющей ведущую роль в инактивации органических перекисей. Нами установлено статистически достоверное снижение активности указанного фермента у крыс, которые в течение 6 месяцев получали грибной порошок в количестве 25% ( $p < 0,05$ ). Снижение активности каталазы может быть следствием субстратной регуляции этого фермента и обусловлено меньшим количеством липоперекисей в клетках печени.

На торможение процессов свободнорадикального окисления биомолекул в организме направлены специальные механизмы противоокислительной биологической защиты. В выполненном эксперименте установлены некоторые показатели, отражающие состояние системы антиоксидантной защиты организма. В связи с тем, что перекисная резистентность эритроцитов является наиболее информативным показателем состояния противоокислительной системы и основным клинико-физиологическим критерием оценки обеспеченности организма витамином Е, нами было проведено изучение интенсивности разрушения мембран эритроцитов под воздействием кислорода воздуха. Установлено, что введение в пищевой рацион изучаемого порошка сиитаке в начале эксперимента во всех испытуемых дозах не вызывало существенных изменений процента гемолиза эритроцитов. Однако, при дальнейшем исследовании отмечено, что употребление изучаемого продукта крысами, получавшими наибольшую дозу сиитаке, вызывало статистически достоверное снижение данного показателя в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ).

Что касается уровня SH-групп в сыворотке крови, то на конечных этапах эксперимента у крыс всех подопытных групп имело место статистически достоверное увеличение содержания тиогрупп небелковой природы. Это может свидетельствовать о возрастании антиоксидантного потенциала, носителем которого является дипептид глутатион, определяющийся во фракции SH-групп небелковой природы.

Анализ показателей липидного обмена не выявил достоверных отличий между контрольной и опытными группами животных.

Информация о содержании продуктов перекисного окисления липидов свидетельствует о том, что введение в корм экспериментальным животным 25% сухого грибного порошка сиитаке приводило к стойкому торможению окислительных процессов в тканях печени и почек. Так, нами отмечены статистически значимые различия уровня малонового диальдегида микросомальной фракции печени и почек крыс, получавших максимальную дозу сиитаке после шестимесячного эксперимента ( $p < 0,05$ ). Такова же направленность динамики и другого показателя перекисного окисления липидов – гидроперекисей липидов микросом печени и почек. Таким об-

разом, проведенный эксперимент позволил установить, что включение в рацион лабораторных животных сухого порошка гриба *сиитаке* оказывает положительное действие на антиоксидантную систему и процессы окисления липидов в организме теплокровных животных.

## ДИСКОМИЦЕТЫ ЛЕСОПАРКОВЫХ ЗОН ВЛАДИВОСТОКА

*Богачева А.В., Ковалева Г.В.*

*Биолого-почвенный институт ДВО РАН  
Владивосток-22*

Владивосток размещается на п-ове Муравьева-Амурского в зоне муссонного климата. Общая площадь составляет около 480 км<sup>2</sup>, половина которой занята городскими строениями, треть – лесопарковой зоной. Рельеф полуострова низкогорный и горно-увалистый. Хребты и увалы разделены долинами 8 основных рек и речек. Среднегодовая температура воздуха составляет 5,3°C, средняя сумма осадков – 644 мм. Наиболее распространены бурые горно-лесные почвы, которые отличаются хорошей водопроницаемостью. Территория относится к Восточно-Азиатской хвойно-широколиственной области Дальневосточной провинции кедрово-широколиственных и дубовых лесов (Колесников, 1955). Все эти показатели обусловили разнообразный видовой состав микобиоты, высокую скорость минерализации растительных остатков и активное накопление гумусового горизонта.

В целом полуостров подвержен высокой антропогенной и техногенной нагрузке. Зеленая зона города участвует в стабилизации окружающей среды, выполняет водоохранную функцию, служит резервуаром чистого воздуха и местом отдыха населения.

Дискомицеты – это сумчатые грибы класса *Ascomycetes*, отличающиеся открыто располагающимся гимениальным слоем на поверхности плодового тела (аскомы) – апотеция. Присутствуя во всех типах экосистем, грибы выполняют значительную деструкционную, продукционную, паразитарную и трофическую роль. Будучи гетеротрофными организмами, играют существенную роль в общем круговороте веществ в растительных сообществах, принимая активное участие в процессах разложения и минерализации различных органических субстратов. Сапротрофные грибы участвуют в биодеградации всех органических субстратов, как естественного, так и антропогенного происхождения.

Обилие заносных и интродуцированных растительных форм определяет широкий спектр видов дискомицетов, поселяющихся на них. Все грибы-деструкторы растительного опада можно поделить на несколько больших многокомпонентных групп: листового опада, веточного опада и остатков травянистых растений. Структура этих экологических комплексов опреде-

ляется, главным образом, наличием пищевых субстратов, и, в меньшей степени, абиотическими факторами.

Обладая развитым ферментативным аппаратом, дискомицеты обнаруживают довольно четкое разделение на две группы – обитающие на хвойных и на лиственных породах. Наблюдается также некоторая видовая специализация. Разрушение древесины валежных деревьев происходит сравнительно быстрее сухостойных. Функциональная специфика дереворазрушающих дискомицетов, обусловленная наличием у них целого ряда ферментов, заключается в расщеплении органических веществ, не разлагаемых другими гетеротрофными организмами. Осуществляя первую стадию разложения отмершей древесины, они подготавливают в ряде случаев субстрат к заселению его базидиальными грибами. В большей степени выбор древесины определяет также и степень её деструкции: на начало разложения и завершающую его стадию приходится максимум участия видов дискомицетов.

Веточный опад, в основном, заселен разрушителями лигнино-целлюлозных соединений из многочисленной группы иноперкулятных дискомицетов. Надо заметить при этом, что существует некоторая дифференциация в выборе размера субстрата. Одни виды поселяются на ветвях довольно тонких, соразмерных со стеблями травянистых растений, другие, напротив, для формирования мицелия предпочитают валежную стволую древесину или ее части.

Доля участия оперкулятных дискомицетов в процессе деструкции веточного опада в хвойно-широколиственных лесах южной части Дальнего Востока определяется 44 видами из порядка *Pezizales*. Гельвелловые грибы (сем. *Helvellaceae*) представлены 2 видами и поселяются на сильно разложившихся валежных ствольных частях. В этой группе довольно четкое разделение на консортов хвойных и лиственных пород. Из семейства *Pyronemataceae* отмечен 21 вид. Это в основном виды рода *Scutellinia*, широко распространенного в растительных сообществах региона и почти не проявляющие дифференциации при выборе породы субстрата. Некоторые из них могут развиваться и на почве. Такой же эвритрофностью отличаются и пецицевые (сем. *Pezizaceae* – 17 видов), саркосцифовые (сем. *Sarcoscyphaceae* – 2 вида) и саркосомовые (сем. *Sarcosomataceae* – 2 вида) грибы.

Необходимо отметить существенную особенность развития оперкулятных дискомицетов на древесном субстрате. При выборе последнего предпочтение отдается валежным ствольным частям или крупным по диаметру ветвям (не менее 2-3 см), погруженным в листовую подстилку или гумус.

Особняком среди рассматриваемой нами экологической группы грибов стоят деревоокрашивающие виды, из них на полуострове обнаружены: *Chlorociboria aeruginosa* (Oeder) Seaver ex C. S. Ramamurthi, *Korfet* L. R. Batra и *Ch. aeruginascens* (Nyl.) Kanouse ex C. S. Ramamurthi, *Korfet* et L. R. Batra. Они вызывают сплошную сине-зелёную окраску древесины лиственных пород. Не разрушая древесину, грибы живут за счёт её запасных веществ или плазматических остатков живых клеток и собственно древесную массу

не трогают. Окрашивание происходит за счёт выделяемых ими пигментов (Рипачек, 1967).

Ежегодное накопление подстилки представляет собой довольно внушительную массу. Подстилка, в широком смысле, представляет собой многокомпонентную систему, состоящую из перезимовавшего опада (как листового, так и веточного) и нижнего – растительных остатков, сохранивших еще некоторую свою структуру. Верхний слой представляет собой смесь листового опада древесных, кустарниковых и травянистых растений. Такое деление основано на распределении видов грибов, в частности, дискомицетов на каждом из этих элементов.

Полуостров покрыт флористически и структурно разнообразными лесами (Проходченко и др., 1996). Чернопихтово-широколиственные леса встречаются на разных элементах рельефа. Основным лесообразующим породам – пихте цельнолистной и кедру корейскому сопутствуют консортные им дискомицеты: *Calloria fairmani* Rehm, *Clavidisculum karstenii* Raitv., *Gyromitra gigas* (Krombh.) Cooke, *G. infula* (Schaeff.) Quel., *Hymenoscyphus pileatus* (P. Karst.) Kuntze, *Mollisia pumilionis* Rehm, *M. trabincola* Rehm, *Niptera hypogaea* (Bres.) Rehm, *Orbilbia microclava* Velen., *Pezicula acericola* (Peck) Sacc., *Peziza arvernensis* Boud., *Pezizella aurantiaca* E. K. Cash, *Pseudorhizina sphaerospora* (Peck) Pouzar, *Sarcosoma amurense* Lj. N. Vassiljeva, *Scutellinia badio-berbis* (Berk. ex Cooke) Kuntze, являющиеся сапротрофными грибами. Вместе с тем удалось обнаружить патогенные и условно-патогенные виды хвойных пород деревьев – *Caloscypha fulgens* (Pers.) Boud., *Dasyscyphus pini* (Brunch.) G. G. Hahn et Ayers, *Dermatella pumilionis* (Rehm) Sacc., *Dermea pinicola* J. W. Groves, *Geopyxis carbonaria* (Alb. et Schwein.) Sacc., *Lachnellula calyciformis* (Willd.: Fr.) Dharne, *L. willkommii* (Hartig) Dennis, *Peziza verrucosa* (Velen.) Smitska, *Pyronema omphalodes* (Bull.) Fuckel. Постоянный попутчик хвойных деревьев – *Rhizina undulata* Fr. Формирует аскомы на уже мертвой древесине и хвое. Возможно, что в анаморфной стадии своего развития этот гриб обладает патогенностью. То же можно сказать и в отношении других распространенных сумчатых грибов – *Chlorocoboria strobilina* (Alb. et Schwein.) Seaver, *Ciliolarina neglecta* Huhtinen, *Discina ancilis* (Pers.) Sacc., *Pseudoplectania nigrella* (Pers.) Fuckel, *Scutellinia scutellata* (Fr.) Lambotte. Исследований циклов развития дискомицетов, развивающих свои плодовые тела на древесине и древесных остатках, практически, не ведется.

Группа широколиственных лесообразующих пород – дуб монгольский, липа амурская, береза желтая, калопанакс семилопастной, ясень маньчжурский и др. формирует лиственный опад. Количество азотистых соединений и минеральных составных частей в нем содержится больше, нежели в древесине (Частухин, Николаевская, 1969). На этом субстрате развивается целый комплекс филлофильных дискомицетов. При выборе субстрата из широколиственных пород древесных растений филлофильные дискомицеты в своем подавляющем большинстве не проявляют предпочтений. Однако

можно заметить некоторые группировки видов, ассоциированные с листовым опадом древесных, кустарниковых или травянистых растений.

В группе дискомицетов, колонизирующих листовую опад прошлого года, преобладают иноперкулятные виды из семейств *Dermateaceae* (2 вида), *Geoglossaceae* (1), *Helotiaceae* (5), *Hyaloscyphaceae* (9), *Rutstroemiaceae* (1) и *Sclerotiniaceae* (4), проявляя при выборе субстрата более высокую степень видоспецифичности. Некоторая видовая специализация обусловлена различным содержанием зольных элементов у древесных пород. Так листья березы наиболее богаты кальцием, листья осины характеризуются высоким содержанием кремнезема. Листья кустарников аккумулируют наибольшее по сравнению с остальными породами количество зольных веществ (Борисова, 1984). По всей вероятности оперкулятные дискомицеты обладают менее мощным ферментным аппаратом по сравнению с иноперкулятными. Замечено, что оперкулятные грибы развиваются преимущественно на растительных остатках с нарушенной до некоторой степени клеточной структурой. Эта группа представлена следующими семействами: *Ascobolaceae* (1 вид), *Helvellaceae* (2), *Pezizaceae* (1), *Pyronemataceae* (8) и *Sarcoscyphaceae* (2).

Особенностью биоты дискомицетов лесопарковых зон Владивостока является сравнительно небольшое количество видов грибов, развивающихся на почве. Вероятнее всего это вызвано рекреационным давлением, уплотнением верхнего почвенного горизонта и изменением его кислотности. В группу эдафобитов мы объединили все гумусо-подстилочные виды дискомицетов. Здесь наблюдается градация от олиготрофов, развивающихся на песке и глине, до эвтрофов, служащих как бы переходным звеном к филлофильным грибам листового опада.

Отмечен целый ряд видов дискомицетов с высокой экологической валентностью: *Albotricha albotestacea* (Desm.) Raitv., *Ascocoryne sarcoides* (Jacq.) J. W. Groves et D. E. Wilson, *Bisporella citrina* Korf et S. E. Carp., *Chlorociboria aeruginascens*, *Ch. aeruginosa*, *Chlorencoelia versiformis* (Pers.) J. R. Dixon, *Dasyscyphella angustipila* Raitv., *Dasyscyphus pudibundus* (Quil.) Sacc., *Hyaloscypha albohyalina* (P. Karst.) Boud. var. *albohyalina*, *H. albohyalina* var. *spiralis* (Velen.) Huhtinen, *H. albohyalina* var. *tigillaris* (P. Karst.) Huhtinen, *H. hyalina* (Pers.) Boud., *Humaria hemisphaerica* (F. H. Wigg.) Fuckel, *Lasiobelonium belanense* (Svrček) Raitv., *Orbilina delicatula* (P. Karst.) P. Karst., *O. sarraziniana* Boud., *Peziza brunneoatra* Desm., *Sarcoscypha coccinea* (Jacq.) Sacc., *Scutellinia minor* (Velen.) Svrček, *S. parvispora* J. Moravec, *S. scutellata*, *S. scutellata* var. *discreta* Kullman et Raitv., *S. subhirtella* Svrček. Освоение ими разнообразных субстратов, широкое распространение, высокий уровень численности, что дает основание утверждать, что это эволюционно прогрессивные, биологически процветающие виды.

Определены группы гемерофильных и гемерофобных видов грибов. Виды рода *Peziza* Fr.: *P. arvernensis* Boud., *P. badiofusca* (Boud.) Dennis, *P. domiciliana* Cooke, *P. verrucosa* (Velen.) Smitska и некоторые другие виды грибов, развивающиеся на кострищах, почве в местах скопления мочевины, на

различных техногенных остатках, по-видимому, расширяют область своего обитания благодаря воздействию человека на природу. Относительно видов грибов, исчезающих или исчезнувших в результате воздействия человека на естественную растительность, можно высказать предположение, что узкоспециализированные сапротрофные виды или ярко выраженные монофаги наиболее уязвимы. Среди дискомицетов таких грибов мало.

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОПОЛИГАЛАКТУРОНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

*Бойко С.М., Филиппова Ю.О.*

*Донецкий национальный университет  
Украина*

Современное использование высших базидиальных грибов включает производство аминокислот, ферментов, ферментированной пищи, ароматизаторов, лекарств, гербицидов, органических кислот, пестицидов, противораковых средств, белка, витаминов, и др. Интерес, проявляемый исследователями к грибным ферментам объясняется как теоретическим, так и практическим значением последних. В последние годы грибы выступают как продуценты или рассматриваются как перспективные продуценты многих дефицитных белков животного, растительного или бактериального происхождения. Одним из направлений экспериментальной микологии рассматривается использование грибов как продуцентов ферментов пектолитического действия. Подобные ферменты находят широкое применение в фармацевтической промышленности для увеличения выхода биологически активных веществ из тканей растений, в текстильной промышленности при обработке льна, в консервной и винодельческой отрасли, в целлюлозно-бумажной при изготовлении высококачественной бумаги, а также в клеточной биотехнологии при получении культур протопластов.

Целью нашего исследования было изучить динамику изменения эндополигалактуроназной активности в культуральном фильтрате дереворазрушающих грибов *Irpex lacteus* Fr. K-1 и *Coriolus sinuosus* Fr. CS-1. Штаммы культивировали на глюкозо-пептонной питательной среде, где единственный источник углерода – глюкоза, был заменен на цитрусовый пектин (*Citric*) в концентрации 1 г/л. Культивирование осуществлялось в течение 10 суток. Каждые сутки проводилось измерение эндополигалактуроназной активности культуральных фильтратов вискозиметрическим методом. За единицу пектолитической активности, принимали количество фермента, которое в строго определенных условиях при температуре 30°C за 10 мин катализирует гидролиз 1 г пектина со снижением вязкости раствора на 30%. Все цифровые данные подвергались статистической обработке.

Полученные данные показали, что культура *K-1 Irpex lacteus* с большей интенсивностью и скоростью синтезировала в среду пектолитические ферменты приводящие к значительному разжижению субстрата. Так на 3 сутки данный показатель достигал значения 0,030 г/мл, а абсолютно максимальное значение 0,033 г/мл приходится на 7 сутки роста. Статистически достоверный максимум так же приходится и на 10 сутки культивирования (0,032 г/мл). Что касается культуры *CS-1 Coriolus sinuosus*, то проявляемая ею эндополигалактуроазная активность находится на достаточно низком уровне по сравнению с предыдущей культурой. На 3 сутки активность составляет 0,003 г/мл, следующий подъем наблюдается на 7 сутки (0,007 г/мл), абсолютно максимальное значение наблюдается лишь на 10 сутки (0,017 г/мл). Обращает на себя внимание то, что в обоих случаях графики имели синусоидный характер с подъемом и падением активности. Данный факт следует изучить более детально на более длительном сроке культивирования и на других культурах.

На основе полученных данных можно говорить о перспективности использования базидиальных грибов в качестве возможных продуцентов пектиназ. Культура *K-1 Irpex lacteus* может быть рассмотрена в качестве продуцента ферментов пектолитического действия, способного интенсивно и в короткие сроки продуцировать данный фермент.

## СКРИНИНГ ШТАММОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАКРОМИЦЕТОВ В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР ШЛЯПОЧНЫХ ГРИБОВ

*Бухало А.С., Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Ломберг М.Л.*  
*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев*

Культуры макромицетов нашли широкое применение в биотехнологии (производство плодовых тел, культурального мицелия, фармакологических препаратов, ферментов и др.) и в различных аспектах фундаментальных микологических исследований (Бухало, 1988; Бухало, Бисько, Соломко и др., 2004). Важнейшей предпосылкой для проведения фундаментальных исследований и использования в биотехнологии лекарственных и съедобных макрогрибов являются специализированные коллекции культур, одна из которых – Коллекция культур шляпочных грибов (ИВК) Института ботаники им. Н.Г. Холодного Национальной АН Украины (Киев, Украина), в которой поддерживаются культуры более 150 видов макромицетов, имеющих лекарственные свойства (*Buchalo, Mitropolskaya, Michajlova, 2006*). Стратегия скрининговых программ, которые проводятся на основе коллекции культур зависит от их конечной цели: идентификации культур,

селекции продуцентов мицелиальной биомассы, плодовых тел, ферментов, полисахаридов, антибиотиков, пигментов или других биологически активных и фармакологических веществ.

Так как от таксономического положения культур зависит их корректное биотехнологическое применение, то первостепенной задачей является установление критериев идентификации культур грибов. В первую очередь изоляты из природных карпофоров должны быть идентифицированы как принадлежащие к отделам *Basidiomycota* или *Ascomycota*. Пряжки и строение клеточной перегородки (наличие долипоры) являются основополагающими характеристиками у мицелиальных культур, относящихся к отделу *Basidiomycota*. Идентификация изолятов на видовом уровне включает использование комплекса морфологических, микроморфологических, физиологических и биохимических характеристик. Морфология грибов в чистой культуре изучена недостаточно, что приводит к ошибкам в интерпретации таксономического статуса культур и, как следствие, химической природы конечного продукта биотехнологического процесса. Литературные данные о таксономическом положении конидиальных спороношений, описанных в культурах грибов относимых к роду *Cordyceps*, позволяют предположить, что на жидких средах вместо *Cordyceps* могли культивироваться другие виды, в том числе токсинообразующие виды микромицетов. Стадия телеоморфы, т.е. образование в чистой культуре плодовых тел макромицетов, является наиболее надежным критерием при идентификации видовой принадлежности культур. К сожалению, макрогрибы часто не образуют плодовых тел в чистой культуре. В том случае, когда в коллекции поддерживается штаммовое разнообразие биотехнологически важных видов, происхождение которых вызывает сомнение, их идентичность устанавливалась на молекулярном уровне (виды *p.p. Agaricus*, *Hypsizygos* и др.) или путем вегетативного скрещивания культур (*Lentinus edodes*, *Agrocybe aegerita*, *Flammulina velutipes* и др.).

Было показано (Buchalo, Diduch, 2005), что при определении таксономического положения культур грибов должны быть использованы следующие критерии: наличие и морфология стадии телеоморфы; морфология и скорость роста мицелиальной колонии на эталонной среде; наличие и тип конидиального спороношения; наличие, расположение и морфология пряжек и других структур вегетативного мицелия; ферментативные реакции грибной колонии; температурный интервал (особенно верхний предел) роста мицелия. Исследования с применением сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) позволили нам получить новые данные по морфологии культур около 150 видов лекарственных грибов (*Lentinus edodes*, *Hericium erinaceus*, *Grifola frondosa*, *Hypsizygos marmoreus*, *Lepista nuda*, *Schizophyllum commune*, *Piptoporus betulinus*, *Omphalotus olearius*, *Laetiporus sulphureus*, *Polyporus squamosus*), а также других видов, относящихся к родам *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Coriolus*, *Agaricus*, *Auricularia*, *Oudemansiella*, *Coprinus*, *Marasmius*, *Morchella* и др.).

Радиальная скорость роста на агаризованных средах является важной характеристикой при скрининге штаммов. Полученные данные существенно различаются в зависимости от таксономического и экологического положения видов грибов. На бедных питательных средах (среда Чапека, компостный агар и др.) мицелиальный рост в большинстве случаев быстрый, но с образованием паутиноподобной колонии, стелющейся по поверхности агара. Максимальная скорость радиального роста на этих средах у некоторых видов достигала 17-19 мм/сут (*Morchella esculenta*, *M. conica*, *Panus tigrinus* и др.). На богатых агаризованных средах (MEA, PDA, сусло-агар и др.) обычно формируются плотные и высокие мицелиальные колонии, а максимальная скорость роста мицелия составляла 16-19 мм/сут (*Agrocybe aegerita*, *Ganoderma lucidum*, *Piptoporus betulinus*, *Pleurotus djamor*, *Morchella spp.*, *Schizophyllum commune*, *Volvariella volvaceae* и др.). Таким образом мы можем констатировать, что радиальная скорость роста на бедных средах не коррелирует с хорошим мицелиальным ростом (имеется в виду накопление биомассы).

Скрининг культур в отношении температурного фактора проводили в интервале от +4°C до +37°C. Оптимальная температура для роста мицелия большинства исследованных культур отмечена при 26-28°C. Специфичными для определенных видов были низшие и высший температурный предел мицелиального роста: *Pleurotus djamor*, *P. sajor-caju*, *Volvariella volvaceae* не росли при температуре ниже +15°C, *Schizophyllum commune* рос при 37°C. Для большинства же исследованных культур температура 34°C была пределом высшей температуры для мицелиального роста. Представители семейства *Morchellaceae* (*Ascomycota*) образовывали хорошо развитые мицелиальные колонии со склероциями при +4°C, хотя скорость их радиального роста при этой температуре была меньше (около 3,8 мм/сут), чем при 26-28°C.

Ростовые характеристики около 150 лекарственных видов макромицетов, относящихся к различным таксонам и трофическим группам из родов *Agrocybe*, *Flammulina*, *Lentinus*, *Lepista*, *Macrolepiota*, *Oudemansiella*, *Panus*, *Pleurotus*, *Marasmius*, *Morchella* и др. были изучены на жидких средах с использованием глубинного метода культивирования. Наибольшее количество исследованных видов и штаммов с интенсивным ростом в глубинной культуре было отмечено среди лигнотрофов. Показано, что при глубинном культивировании типы вегетативного и бесполого размножения являются такими же, как и на агаризованных средах (Бухало, 1988; Buchalo, Diduch, 2005). В результате на жидких комплексных средах были отобраны для глубинного культивирования продуценты мицелиальной биомассы с лекарственными свойствами (Patent No US 6,372,964 B1. Apr. 16, 2002).

В Коллекции проведен отбор штаммов-продуцентов плодовых тел и биомассы (*Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Morchella esculenta* и др.) и биологически активных веществ (*Ganoderma spp.*, *Inonotus obliquus* и др.) по чувствительности к свету.

В процессе скрининга важно установить корреляцию между определенными морфологическими, физиологическими, биохимическими характеристиками культур и желаемыми свойствами продуцентов. Так, например: формирование склероциев в культуре у *Morchella spp.* предшествует развитию карпофоров; наличие сильной реакции на лакказу в колонии *Neigisium epinaseus* может коррелировать с таким нежелательным явлением как побурение карпофоров. Наличие и характер протекания некоторых ферментативных реакций в чистой культуре указывает на возможность использования специфических субстратов или компонентов питательных сред для их культивирования.

В каждом конкретном случае поисковая программа скрининга продуцентов включает в себя исследование в чистых культурах макромицетов ферментов, антибиотиков, полисахаридов, пигментов, подбора источников углерода, азота, минералов, витаминов, биостимуляторов, реакции рН и др. для обеспечения наилучшего роста мицелия, образования плодовых тел или продуктов метаболизма.

## ЗАВИСИМОСТЬ УРОЖАЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *LENTINULA EDODES* (BERG.) PEGLER ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ

*Василенко Е.Л., Григанский А.Ф.*

*Университет А. фон Гумбольдта, Берлин, Германия  
Национальный аграрный университет, Киев, Украина*

Ши-и-таке (*Lentinula edodes* (Berg.) Pegler) – ценный съедобный и лекарственный гриб, который пользуется возрастающей популярностью среди грибоводов мира. На продуктивность этого гриба при интенсивном культивировании влияют многие факторы. Это тип и физиологическое состояние инокулюма, состав субстрата, а также абиотические факторы (температура, влажность воздуха и субстрата, содержание углекислого газа и т.д.). Исследования провели на грибоводческом предприятии Bergland-Pilze (Германия) в 2006 г. Изучено влияние температурного режима инкубации субстратных блоков на урожайность и качество плодовых тел при промышленном выращивании гриба *L. edodes*. Эксперимент ставили с коммерческим штаммом 3782 производства Голландии на протяжении 130 дней. Субстрат обрастал грибницей при трех вариантах температурного режима (24, 27 та 30°C) на протяжении 10, 17 и 24 дней в конце инкубации. Продолжительность периода фруктификации, урожайность и качество плодовых тел зависят от температурного режима во время инкубации субстратных блоков после их инокуляции мицелием. Наибольшее количество грибов первого сорта собрали на блоках с максимальным количеством плодовых тел. Повышенные температуры на протяжении периода дозревания блоков приводит к

растягиванию длительности плодоношения у 1,3-5 раз, снижению урожая на 10-75% и увеличению количества плодовых тел второго сорта в 1,5-10 раз. Относительно кратковременное (7 дней) повышение температуры до 30°C не так сильно влияет на субстратные блоки, как более длительное (24 дня) действие температуры 27°C. Оптимальная температура инкубации для штамма 3782 составляет 24°C на протяжении всего периода созревания.

## **ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА БЕЛКОВ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР КУЛЬТИВИРУЕМОГО КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *LENTINUS EDODES***

*Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е.*

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН  
Саратов*

Питательная ценность и наличие уникального комплекса биологически активных веществ у культивируемых ксилотрофных базидиомицетов позволяют использовать их как ценное сырье для создания лечебно-профилактических и медицинских препаратов, биологически активных добавок. В этом отношении большой интерес представляет *Lentinus edodes* (*Berk.*) *Sing.* (японский гриб, шиитаке, черный лесной гриб). Его можно считать одной из самых древних грибных культур, который начали выращивать в Японии, а затем в Корее, континентальном Китае и на острове Тайвань около двух тысяч лет назад. В естественных условиях он и сейчас встречается на дубе, грабе, буке в лесах этих стран, а также в Малайзии и на Филиппинах. По мировому валовому сбору шиитаке уступает только шампиньону. Производство шиитаке увеличивается с каждым годом. Уже более двадцати лет эти грибы являются одним из важнейших сельскохозяйственных экспортных продуктов Японии – основного производителя шиитаке. В настоящее время преобладает интенсивная технология выращивания гриба, не зависящая от климатических условий, что способствует распространению культуры и в других странах, в том числе и, сравнительно недавно, в России. Из шиитаке выделили целый ряд медицинских препаратов, показавших себя как незаменимые лекарственные средства для лечения злокачественных новообразований (лентинан, эриаденин, LAP1), ряда вирусных инфекций, в том числе и СПИДа, уменьшения свертывания крови (ленциноцин и диоксиленциноцин), а также для снижения количества холестерина в крови. Особая ценность этих препаратов состоит в том, что они не оказывают токсического действия на организм больного. Все это говорит о необходимости дальнейшего активного изучения биохимии и физиологии *L. edodes*. Особый интерес, как нам кажется, представляют проблемы морфогенетического развития гриба, особенности стадий цитодифференцировки. Имеется относительно большое

число работ, посвященных шиитаке. Однако подавляющее большинство их, описывая специальные методы и подходы к процессу культивирования, не затрагивает биохимических аспектов роста и развития. В отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные по обнаружению и изучению белков, характеризующих определённые морфологические структуры грибов.

Целью настоящего исследования явилось изучение фракционного состава внутриклеточных белков, синтезируемых *L. edodes* на всех стадиях морфогенеза, для выявления белковых компонентов характеризующих определенные морфологические структуры гриба.

В работе использовали штамм *L. edodes* F-249 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. Культивирование проводили на среде с агаризованным пивным суслон (4° по Баллингу) при 26°C как оптимальной температуре роста мицелия для данного вида. Экстракты из мицелия получали в результате последовательных операций: отделения от среды выращивания на каждой стадии морфогенеза, промывки дистиллированной водой, высушивания при 25°C до постоянной массы, механического измельчения и экстракции 100 мг биологического материала, к которому добавляли 10 мл экстрагирующего раствора. Исследование компонентного состава белков, полученных при экстракции на каждой стадии развития гриба, проводили с помощью электрофореза в 15 %-ом полиакриламидном геле (ПААГ) с ДДС-Na по методу *Laemmli*. Белок наносили из расчета 40 мкг на трек, основным красителем служил бромфеноловый синий. В качестве стандарта использовали набор белков маркеров фирмы «Amresco» (США): Phosphorilase B (97 kDa), BSA (66,2 kDa), Ovalbumin (45 kDa), Carbonic anhydrase (31 kDa), Trypsin inhibitor (21,5 kDa), Lysozyme (14,4 kDa). Визуализация белковых спектров осуществлялась методом окраски при помощи нитрата серебра. Исследовали фракционный состав внутриклеточных белков на стадии непиgmentированного мицелия (НМ), пигментированного мицелия (ПМ), коричневой мицелиальной пленки (КМП), примордия (П), плодового тела (ПТ). Плодовые тела *L. edodes* образовывались на чашках Петри с суслон-агаром через 50-60 суток после инокуляции. Для выявления наиболее полного спектра внутриклеточных белков *L. edodes*, изучали содержание белковых веществ растворимых в дистиллированной воде, в 20мМ Трис-НСl pH=8,0 (фракции, которые условно назвали легкорастворимыми), в буфере, содержащем 20мМ Трис-НСl pH=8,0 с добавлением 1М NaCl и 3М NaCl (умереннорастворимые фракции), в щелочи (0,2 % NaOH), в 80% этиловом спирте, а также в буфере содержащем 20мМ Трис-НСl pH=8,0, 2% ДДС-Na и 10% глицерин (фракции, которые условно были названы труднорастворимыми). Данные буферные системы широко используются исследователями и позволяют экстрагировать наибольшее количество белков. Концентрацию белка в растворе определяли по методу Бредфорда.

Проведенные исследования показали, что в мицелии гриба содержится около 50% легкорастворимых белков, причем в воде растворилось 22% от общего количества белка, а в буфере 20мМ Трис-НСl рН=8,0 растворилось 28% белка. Однако следует отметить, что белковые компоненты характерные для водного экстракта в полном объеме присутствуют и в экстракте с Трис-НСl, а 28% относятся к вновь появившимся белковым компонентам, которые водой не экстрагируются. Максимальное содержание белков легкорастворимой фракции характерно для примордий и плодовых тел. Из примордия белки лучше экстрагируются буфером Трис-НСl, а из плодового тела водой. Наименьшее количество легкорастворимых белков, по сравнению с другими морфоструктурами, присутствует на стадии непигментированного мицелия.

Белки умереннорастворимой фракции составляют 29% от общего количества экстрагированных компонентов. Наибольшее количество белков растворившихся в 1М NaCl было обнаружено на стадии пигментированного мицелия, а также на стадии коричневой мицелиальной пленки – характерной структуре для данного вида гриба, предшествующей плодоношению. По сравнению со спектром легкорастворимых белков общее количество белковых компонентов, выделенных 1М NaCl для данных стадий морфогенеза, немного больше. Для остальных морфогенетических стадий (НМ, П и ПТ) в качестве наиболее эффективной экстрагирующей системы является буфер 20мМ Трис-НСl рН=8,0. Большей концентрацией соли (3М NaCl) дополнительных белковых компонентов экстрагировано не было, хотя на электрофореграмме присутствует небольшое количество слабо концентрированных белковых полос имеющих одинаковые молекулярные массы с белками, выделенными одномолярной солью.

Наибольшее количество труднорастворимой фракции белков было обнаружено в пигментированном мицелии и коричневой мицелиальной пленке, наименьшее в плодовом теле. От общего количества выявленных белковых компонентов труднорастворимые белки составляют 21%. В щелочи (0,2 % NaOH) растворилось 18%, в буфере, содержащем 20мМ Трис-НСl рН=8,0, 2% ДДС-Na и 10% глицерин, растворилось 3% от общего числа выявленных белков. Экстракция 80% этиловым спиртом не выявила белки ни на одном этапе морфогенеза.

Качественный состав белков различных морфологических структур высшего базидиомицета *L. edodes*, отражают электрофоретические спектры отдельных фракций, которые схематически, наряду с молекулярными массами белковых компонентов, представлены в таблице. Сравнительный анализ белковых спектров, как следует из данных таблицы, показал их изменение в процессе формирования плодового тела. На спектрах легкорастворимых белков значительное отличие в структуре полос имело место при переходе от стадии НМ к КМП – стадии предшествующей плодоношению. Наиболее четкие полосы, характеризующие НМ, имели молекулярную массу 45 kDa и 42 kDa.

Таблица. Характеристика компонентного состава внутриклеточных белков базидиомицета *Lentinus edodes* на разных стадиях морфогенеза

Стадии морф-за	Молекулярная масса, кДа																																						
	14	16	18	21	23	24	25	27	28	29	30	32	33	34	35	38	39	40	42	43	45	46	50	54	55	63	66	76	84	>100									
<b>I фракция – легкорастворимые белки</b>																																							
НМ	*	*		*																*	*																		
ПМ	*	*		*	*				*	*	*	*	*							*	*																		
КМП	*	*		*	*	*	*	*			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
П	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
ПТ	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	
<b>II фракция – умереннорастворимые белки</b>																																							
НМ																																						*	
ПМ	*	*		*	*				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
КМП	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
П	*	*																																					
ПТ	*																																						*
<b>III фракция – труднорастворимые белки</b>																																							
НМ				*																																		*	
ПМ				*																*	*																	*	
КМП				*																						*	*	*								*	*	*	
П				*														*								*	*	*											
ПТ				*																						*	*	*											*

Примечание: + – наличие белка на электрофореграмме.

На стадии КМП данные белковые компоненты полностью отсутствовали, но появлялись субъединицы массой от 23 кДа до 33 кДа. Белок с молекулярной массой 24 кДа характерен только для КМП. Главное отличие белковых спектров П и ПТ заключается в появлении легкорастворимых белков молекулярной массой от 50 кДа и выше, которые не наблюдались на предыдущих стадиях морфогенеза. Белковые компоненты от 14 кДа до 21 кДа являются сходными для всех морфогенетических структур. При экстрагировании белков мицелия водой обнаружено 27 белковых компонентов. При экстракции буфером Трис HCl общее количество дополнительных появившихся белковых субъединиц составило 34 единицы, однако, как было уже отмечено, буфером экстрагировались практически все белки характерные для водной экстракции. Исключение составляют некоторые белки ПТ: водой экстрагировались белки с молекулярной массой 43 кДа и 50 кДа, а буфером Трис HCl – 32 кДа, 45 кДа и 55 кДа.

Умереннорастворимая фракция белка содержала меньшее, по сравнению с предыдущей фракцией, число белковых компонентов. Появляется большее количество белков молекулярной массой выше 45 кДа. Общее количество белковых компонентов умереннорастворимой фракции равно 35. Обнаруживаются общие с предыдущей фракцией белковые компоненты, дополнительно выявлено 13 субъединиц. Наибольшее количество белков растворившихся в 1М NaCl у ПМ и КМП, 11 и 10 компонентов соответственно, наименьшее, 2 субъединицы, у примордия. Большой концентрацией соли (3М NaCl), как

уже говорилось, дополнительных белковых компонентов экстрагировано не было, хотя находилось небольшое количество общих белков.

Фракция труднорастворимых белков содержала 26 белковых компонентов, представленными белками молекулярной массой 18 kDa, 50 kDa, 54 kDa, 55 kDa и высокомолекулярными соединениями свыше 100 kDa, характерными для всех стадий морфогенеза гриба. В щелочи (0,2 % NaOH) растворилось 22 белковых компонентов, в буфере, содержащем 20мМ Трис-НСl pH=8,0, 2% ДДС-Na и 10% глицерин, дополнительно растворилось только 4 белка, не обнаруженных при других условиях экстракции.

На основании проведенных исследований можно говорить о различии фракционного состава внутриклеточных белков, синтезируемых грибом *L. edodes* в процессе формирования плодового тела. Установлено, что в мицелии гриба содержится около 80% легкорастворимых и умереннорастворимых белков, где на долю легкорастворимой фракции приходится 50% от общего количества белков, а на долю умереннорастворимой фракции составляет 29%. Однако данное процентное соотношение варьирует на разных стадиях морфогенеза. Так на стадиях НМ и ПТ водорастворимых белков больше по сравнению с ПМ, КМП и, особенно, примордиями. Показано, что в качестве наиболее эффективной экстрагирующей системы на стадиях НМ, П и ПТ был Tris-HCl pH=8,0 буфер. При экстракции 1М NaCl солью выявляла наибольшее количество белковых компонентов на стадиях ПМ и КМП. В экстрактах более концентрированной соли (3М NaCl) дополнительных субъединиц не обнаруживалось. В 0,2 % NaOH щелочи и в буфере с SDS дополнительно растворился 21% белковых компонентов молекулярной массой, в основном, выше 50 кДа. Экстракция 80% этиловым спиртом не выявляла белки ни на одном этапе морфогенеза. Установлено так же, что белки различаются по составу субъединиц, молекулярные массы которых в большинстве случаев, находятся в области 14 кДа – 30 кДа и 38 кДа – 55 кДа.

Таким образом, исследуемый гриб синтезирует в основном внутриклеточные белки легко и умеренно растворимых фракций, которые различаются между собой по молекулярному весу, электрофоретической подвижности и концентрации. Сравнительный анализ белков и их свойств, при переходе от одной стадии морфогенетического развития к другой, способствует расширению, уже известного, спектра уникального комплекса биологически активных и лекарственных веществ у данного базидиомицета, что позволит более полно использовать шиитакэ как ценное сырье для создания лечебно-профилактических и лекарственных препаратов, биологически активных добавок, а также как продуцентов ферментов, решающих проблему биodeградации растительных отходов. Кроме того, выявление белков характеризующих определённые морфологические структуры грибов, позволит значительно расширить представления о факторах, определяющих формирование плодовых тел.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 06-04-81042.*

## ПИЩЕВАЯ И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ

*Гарибова Л.В.*

*Кафедра микологии и альгологии, Московский  
Государственный Университет имени М.В. Ломоносова.*

Специфическая пищевая ценность грибов определяется относительно невысокой калорийностью и значительным содержанием разнообразных, необходимых для нормального питания веществ. Грибы имеют относительно низкую калорийность, поскольку содержат мало жиров и углеводов. Средняя калорийность 1 кг грибов не превышает 300-500 ккал, в то время как 1 кг жира содержит 9100 ккал., а 1 кг мяса – 4100. В то же время грибы содержат значительное количество белков, витаминов, минеральных и многих других полезных веществ. Именно поэтому они приобретают все большую ценность для людей, ведущих малоподвижный образ жизни, склонных к излишней полноте и выполняющих интенсивную умственную работу. При этом съеденные даже в небольшом количестве грибы вызывают ощущение сытости, что немаловажно при различных разгрузочных диетах.

Грибы ценятся не только как вкусная приправа к мясным и овощным блюдам, но и как самостоятельный пищевой продукт. Мировое производство культивируемых грибов к настоящему времени достигло 6 млн тонн и за последние 10 лет выросло в 2.5 раза. К этому надо добавить еще недостаточно учтенный сбор дикорастущих грибов, который по самым приблизительным подсчетам только в России составляет около 1 млн тонн. Грибы ценны еще и тем, что содержат некоторые витамины, отсутствующие или содержащиеся в минимальных количествах в овощах. По питательной ценности грибы занимают промежуточное положение между мясом и овощами и диетологи приравнивают их к лучшим овощам высших сортов. Грибы ценны как продукт, обогащающий бедную белком растительную пищу, например, картофель и хлеб.

Отличные вкусовые качества грибов способны внести приятное разнообразие в питание, что немаловажно само по себе.

Грибы содержат в среднем около 90% воды (для сравнения: в мясе воды – 50-70%). В них мало, всего 1 – 1.5% сахаров, 4-5% вполне качественного растительного белка (в мясе белка в 3-4 раза больше). Грибной белок содержит большое количество аминокислот, в том числе и незаменимых. Кроме того, в грибах содержатся и свободные аминокислоты. Наиболее полный набор аминокислот найден в белом грибе (22), в культивируемом шампиньоне двуспоровом – 17. Общее содержание аминокислот, определяющее в значительной степени питательную ценность грибов (как и других продуктов) составляет 25-40% сухой массы плодовых тел (P. Stamets, J. Chilton, 1983). Для нового культивируемого гриба кольцевик, или строфария морщинисто-кольцевая был рассчитан показатель питательной ценности на

основе эталонного белка ФАО. Он показал, что по индексу питательности кольцевик приравняется к земляному ореху – арахису. В целом по аминокислотному индексу кольцевик приближается к грибам высокого качества (белый, культивируемый шампиньон), а по индексу аминокислотного сора находится на уровне картофеля и таких овощей как томаты, морковь (А.Гродзинская, 1992). По индексу питательной ценности грибы высокого качества (белые, шампиньоны) занимают в списке продуктов питания пятое место (28 условных единиц). Им прешествуют: цыплята (59 единиц), говядина (43 единицы), свинина (35 единиц) и соя (31 единица). Грибы низкого качества (сыроежки, валуи и т.д.) по этому показателю занимают последнее 17 место (5 единиц).

Показано для культивируемых грибов, что количество белка в них в значительной степени зависит от субстрата, на котором они выращены.

Грибы содержат ряд витаминов: провитамин А, группу витаминов В, необходимый для организма витамин Д. Витамина С в них очень мало.

В состав минеральных веществ, которые составляют 1-1.5% массы гриба, входят калий, кальций, алюминий, железо, фосфор, следы фтора, меди, марганца, кобальта, титана. Эти элементы, содержащиеся в грибах в следовых количествах, имеют тем не менее важное значение для правильного обмена веществ в организме.

Полезна неперевариваемая часть грибной мякоти – микохитин. Подобно целлюлозе овощей, он благоприятно влияет на перистальтику кишечника и, соответственно на весь процесс пищеварения.

Стоит отметить, что, несмотря на все полезные качества грибов, как пищевого продукта, существуют определенные ограничения в их употреблении для людей с желудочно-кишечными заболеваниями, нарушениями функции печени и почек.

Лечебные и лечебно-профилактические свойства съедобных грибов находятся на стадии активного изучения. Для них показаны активирующее действие на иммунную систему и противоопухолевая активность (зимний гриб *Flammulina velutipes*, сии-такэ *Lentinula edodes*, вольвариелла вольвовая, или травяная *Volvariella volvacea*, белый гриб *Boletus edulis*, дрожалка веретенovidная *Tremella fusiformis* и др.), гиполипидемическая активность-способность снижать содержание холестерина в крови, нормализовать кровяное давление (виды рода вешенка *Pleurotus* и, в частности, вешенка рожковидная *P. cornucopia*), из некоторых съедобных грибов выделены соединения, вызывающие снижение содержания сахара в крови (навозник белый *Coprinus comatus*), у ряда съедобных грибов (*Boletus edulis*, *Lentinula edodes*) выявлена противовирусная активность. (P. Stamets, 1993). У вешенки устричной *Pleurotus ostreatus* установлен высокий показатель антиоксидантной активности (А.Капич, 1995).

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ.*

## О ТАКСОНОМИЧЕСКОМ СТАТУСЕ ПОДОСИНОВИКОВ, ПОРАЖЕННЫХ *VERTICILLIUM TERRESTRE*

*Иванов Д.М.*

*Санкт-Петербургский государственный университет*

Среди видов субсекции *Leccinum* рода *Leccinum* Gray, объединяющей подосиновики (красные грибы), встречаются плодовые тела с вывернутой вверх воронковидной шляпкой, трубчатый слой которой заткан мицелием паразитического гриба. Такие плодовые тела называют «глухие». Часто их собирают вместе с другими «благородными» грибами и употребляют в пищу. В результате проведенных исследований был идентифицирован микопатогенный гриб *Verticillium terrestre* (Link) Lindau, вызывающий данные повреждения и изучено микроскопическое строение пораженных плодовых тел (Успехи медицинской микологии Т. VII. С. 283–285).

Однако относительно поражаемого субстрата открытым остается вопрос насколько обосновано в работе (Den Bakker, 2005) описан *Leccinum albostipitatum* H.C. den Bakker & Noordel., spec.nov. «*Leccino aurantiaco similis, pileo aurantiaco, stipite squamulis albis demum parum rubiginosis. Populo consociatus*».

Материалом для исследования послужили плодовые тела, разделенные согласно системе Den Bakker & Noordeloos на *Leccinum aurantiacum* (Bull.) Gray Осиновик красный и *L. albostipitatum*, собранные на пробных площадях в Гатчинском р-не Ленинградской обл. (N 59°04.511', E030°27.488'), а также маршрутным методом на Вороньей Горе в окрестностях ст. Можайское.

Анализ образцов показывает, что все таксономически значимые микроскопические и макроморфологические признаки у *L. aurantiacum* и выделенного из него *L. albostipitatum* являются заходящими. Исключение составляет только макроскопический признак – ножка плодовых тел *L. albostipitatum* покрыта белыми чешуйками, которые быстро чернеют после того, как плодовое тело было сорвано.

Наблюдение на пробных площадях в течение 2004–2006 г.г. показывает гипотеза о том, что подосиновики с белыми чешуйками ножки (*L. albostipitatum*) и с чешуйками от буро-красными до черных (*L. aurantiacum*) могут быть приурочены к клонам осин разного пола (определялся при весеннем пылении) своего подтверждения не нашла. Данные грибы встречаются и под мужскими и под женскими деревьями. Та же картина наблюдается и в лесах, где осина смешана с елью и березой.

Дальнейший анализ проводился с использованием молекулярных маркеров. Препараты ДНК, выделенные из плодовых тел, были проанализированы методом рестрикционного анализа амплифицированной области ITS1-5,8S-ITS2 рДНК. Для амплификации использовали пару праймеров, специфичных к базидиальным грибам: ITS1F 5-cttggtcatttagaggaagtaa 3' и

ITS4B 5'-caggagactgtacacgggtccag 3'. Схема отжига праймеров приведена на рис. 1. Расщепление амплифицированного фрагмента проводилось рестриктазой *Hinf*I – сайт узнавания ↓GATC.

Рис. 1. Схема организации рДНК базидиальных грибов и сайты отжига праймеров.



Примечания: ETS – внешний транскрибируемый спейсер, ITS1, ITS2 – внутренние транскрибируемые спейсеры, IGS1, IGS2 – межгенные спейсеры, ITS 1F и ITS 4B – праймеры, используемые для амплификации.

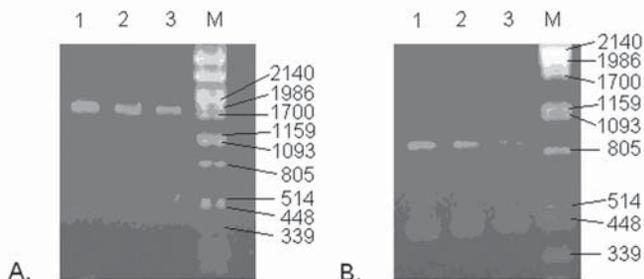
Важно отметить, что размер единственной секвенированной для *L. aurantiacum* последовательности ITS1-5,8S-ITS2 AF454569 1100 п.н. Для ее амплификации использовались праймеры ITS5 и ITS4. Секвенирование было проведено с праймерами ITS2, ITS3, ITS4 и ITS5 (Den Bakker, 2005). Очевидно, этот подход не полностью раскрывает изучаемую последовательность. Применение в данной работе пары праймеров ITS1F и ITS4B, позволяет получить амплифицированные фрагменты для изучаемых образцов размером 1850 п.н. (рис. 2А). Размеры рестрицированных фрагментов для трех образцов совпали по молекулярной массе и составили 850 п.н. и 410 п.н. (рис. 2В). Дополнительно в результате рестрикции получается смесь легких фрагментов размером 70-130 п.н.

Следует отметить, что аномально высокая молекулярная масса ITS1-5,8S-ITS2 рДНК является родоспецифичным признаком. Нормальный размер этого участка у остальных изученных этим методом базидиальных грибов не превышает 700-900 п.н. Даже у родов близкородственных *Leccinum* подобной картины не выявлено. Ранее было установлено, что причиной появления аномально высокой молекулярной массы является накопление в районе ITS1 рДНК большого числа коротких 8 п.н. повторов. Однако это не полностью объясняет такое увеличение размера и ответ, видимо, следует искать в том участке ITS1-5,8S-ITS2 рДНК, который пока секвенирован не полностью.

На следующем этапе генетическая однородность образцов была проверена методом полимеразной цепной реакции с праймером, позволяющим амплифицировать ДНК любого организма. В качестве праймирующего олигонуклеотида была выбрана последовательность L45 5'-gtaaaacgacggccagt-3'.

Генетическая однородность между парой образцов оценивалась на основе коэффициента подобия Fab(%) =  $2Mab / (Ma + Mb) \times 100\%$ , где Ma и Mb – число полос в электрофоретическом спектре каждого из пары сравниваемых образцов, а Mab – число совпадающих полос.

Рис. 2. Электрофоретическое разделение амплифицированной области внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1-5,8S-ITS2 рДНК. А. После амплификации с праймерами ITS1F и ITS4B. В. Те же фрагменты после воздействия рестриктазы HinfI.



Примечания: 1, 2 *Leccinum albostipitatum* из разных географических точек Ленинградской обл., 3 *Leccinum aurantiacum*, M – маркер молекулярной массы Lambda DNA/PstI.

Величина Fab(%), при которой образцы не принадлежат к одному биологическому виду, составила 13 40 % и была определена сравнением представителей родственных для *Leccinum* родов: *Tylopilus felleus* (Bull.) Karst., *Paxillus involutus* (Batsch : Fr.) Fr., *P. atrotomentosus* (Batsch : Fr.) Fr.

Таблица 1. Расчет коэффициента подобия Fab(%) для праймера L45

№		Fab(%)	
	1	2	3
1	–		
2	70	–	
3	76	73	–

Примечание: № условное обозначение плодового тела, из которого была выделена ДНК, соответствует рис. 2.

Величина коэффициентов генетической неоднородности при попарном сравнении образцов составила 70-76%. Праймер L45 использовался для амплификации ДНК базидиальных грибов и раньше. Величина коэффициента Fab(%) для трех представителей одного биологического вида из разных географических точек составляла 70-85%. Полученные данные свидетельствуют о том, что изученные образцы генетически однородны и относятся к одному биологическому виду.

Таким образом, анализ, проведенный по указанным молекулярным маркерам, не подтверждает существование нового вида *L. albostipitatum* генетически гетерогенного для *L. aurantiacum*. Но для принятия окончательного решения необходимо исследовать большую выборку образцов. Кроме того, это означает, что микофильный гриб *Verticillium terrestre* в качестве

субстрата может использовать все плодовые тела, относящиеся к виду *L. aurantiacum*, а не только его форму с белыми чешуйками ножки.

Предполагается, что вертициллезное увядание растений вызывается не только механической закупоркой фитопатогенным грибом сосудов проводящих воду, но и носит токсический характер вследствие выделения мицелием веществ пептидной природы. При проведении дальнейших исследований необходимо ответить на вопрос содержатся ли токсины в пораженных грибах и представляют ли они опасность для человека при употреблении в пищу.

*Работа проведена при финансовой поддержке Правительства Санкт Петербурга (грант № PD06 1.4 142).*

## **ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЕ СПОСОБЫ ПОГРУЖЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КСИЛОТРОФНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И ЛЕКАРСТВЕННО-СЪЕДОБНЫХ ВИДОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ**

*Краснопольская Л.М., Автономова А.В., Леонтьева М.И.,  
Белицкий И.В., Исакова Е.Б., Бухман В.М.*

*ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН  
Москва*

Условия погруженного культивирования грибов, прежде всего состав среды и условия аэрации, оказывают решающее действие на химический состав и биологическую активность объекта. Условия аэрации и газообмена разрабатывают по общепринятым четким алгоритмам. В тоже время выбор среды в большинстве случаев носит эмпирический характер, его осуществляют из небольшого набора стандартных источников питания. Чаще всего питательную среду рассматривают как набор отдельных ингредиентов, а не как результат их интеграции в единую систему.

Цель настоящей работы состояла в разработке алгоритма создания высокоэффективных способов погруженного культивирования ксилотрофных лекарственных и лекарственно-съедобных видов базидиальных грибов. Критериями эффективности погруженного культивирования ксилотрофных базидиальных грибов служили: 1) выход воздушно-сухой биомассы, 2) длительность процесса культивирования, 3) биологическая активность получаемой биомассы. Гарантированный минимальный выход воздушно-сухой биомассы (влажность не более 6%) должен составлять 20 г/л в срок не более 6 суток.

Объектами работы служили штаммы *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizyguis marmareus*, *H. ulmarius*, *Pleurotus*

*djamor*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii*, *Trametes versicolor*. Погруженное культивирование проводили в два этапа: выращивание жидкого посевного материала и собственно ферментация.

Разработку состава жидкой питательной среды для каждого штамма проводили в три этапа. На первом этапе изучали процесс накопления погруженной биомассы на специально разработанной универсальной среде. Этот этап позволял предварительно оценить выход биомассы и длительность процесса. На втором этапе проводили качественный подбор источников углерода, азота, фосфора и микроэлементов, уделяя основное внимание сочетаниям ингредиентов среды. Использование большого количества штаммов при проведении работ второго этапа позволило выявить как эффективные, так и негативные сочетания источников питания ксилотрофных базидиомицетов. Следует отметить, что некоторые из негативных сочетаний ингредиентов сред достаточно часто фигурируют в экспериментальных работах, связанных с культивированием ксилотрофных базидиальных грибов. Третий этап был посвящен установлению оптимальных количественных соотношений источников питания. На этом этапе применяли методы математического планирования эксперимента, такие как метод полного факторного эксперимента и метод крутого восхождения. Методы математического планирования наряду с установлением оптимальных концентраций каждого из факторов позволяют также выявить взаимодействия между источниками питания и наметить пути для усиления положительных взаимодействий факторов и ослаблению негативных. Полные факторные эксперименты с варьированием начальных уровней концентраций источников питания проводили до тех пор, пока построенная поверхность отклика не показывала выраженного экстремума (максимума). В большинстве случаев состав среды определяли по результатам экспериментов, проведенных по методу крутого восхождения, реже рассчитывали по поверхности отклика.

Метод полного факторного эксперимента применяли для разработки способа выращивания жидкого посевного материала. В качестве факторов эксперимента были выбраны состав среды, возраст инокулюма и количество посевного материала. Критерием оценки служил выход воздушно-сухой биомассы на стадии ферментации. Результаты показали, что оптимальный возраст посевной культуры для большинства штаммов составляет 3 суток, наибольший выход биомассы был достигнут при засеве 0,2-0,5 г/л по воздушно-сухому весу.

Разработанные способы погруженного культивирования позволили достичь следующих выходов биомассы: *Flammulina velutipes* – 24,0 г/л за 5 суток, *Ganoderma lucidum* – 21,0 г/л за 4 суток, *Hericium erinaceus* – 22,4 г/л за 6 суток, *Hypsizygos marmareus* – 28,4 г/л за 6 суток, *H. ulmarius* – 37,2 г/л за 3 суток, *Pleurotus djamor* 23,8 г/л на 4 сутки, *P. ostreatus* 23,0 г/л на 3 сутки, *P. pulmonarius* 23,4 г/л на 4 сутки, *P. eryngii* 21,2 г/л на 5 сутки, *Trametes versicolor* 23,5 г/л на 4 сутки.

Для оценки биологической активности полученной погруженной биомассы *G. lucidum*, *H. erinaceus*, *H. marmareus*, *H. ulmarius*, *P. djamor*, *P. ostreatus*, *P. eryngii*, *T. versicolor* была изучена противоопухолевая активность водных экстрактов мицелия и суммарных водорастворимых полисахаридных фракций в опытах *in vivo* на мышах-гибридах BDF1 с привитым лимфолейкозом P388 при пероральном введении. Достоверную противоопухолевую активность проявили все изученные препараты, за исключением водного экстракта мицелия *P. eryngii*. Значения коэффициента торможения роста опухоли (ТРО) водных экстрактов мицелия изученных грибов составили 38-80%, суммарных водорастворимых полисахаридных фракций – 48-86%. Поскольку любые экспериментальные результаты являются логическим продолжением использованных методик, полученные величины ТРО следует рассматривать в контексте использованной модели опухоли. Ранее, в совместных работах с д.м.н., проф. Е.М.Трещалиной было показано, что лимфолейкоз P388 менее чувствителен к противоопухолевым метаболитам базидиомицетов по сравнению с мышинной аденокарциномой молочной железы Ca-755. Выбор менее чувствительной модели позволяет установить разницу в биологической активности видов и штаммов, способов получения и доз их экстрактов и фракций действующих веществ.

Разработанные способы погруженного культивирования ксилотрофных лекарственных и лекарственно-съедобных базидиомицетов обеспечивали ускоренный характер процесса культивирования, высокий выход и существенную, достоверную и воспроизводимую биологическую активность получаемой биомассы.

## **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ GANODERMA APPLANATUM (PERS.: WALLR.)PAT И G.LUCIDUM (CURT.:FR.) P. KARST**

*Круподерова Т.А.*

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины  
Киев*

Всестороннее изучение физиологических характеристик культур лекарственных грибов позволяет выбрать наиболее перспективные штаммы с определенными показателями для их более успешного использования в современной биотехнологии.

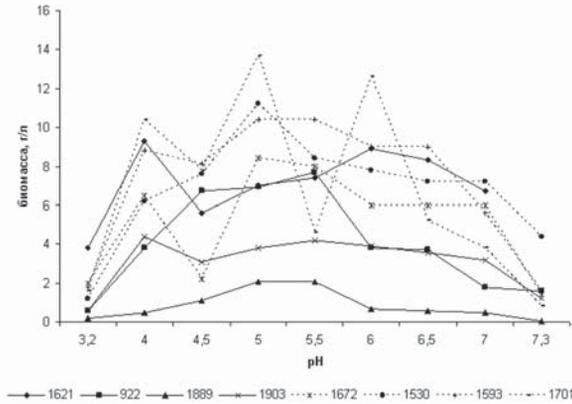
Целью данной работы было исследование влияния рН питательной среды на кинетику роста 4 штаммов (922,1621,1889, 1903) *G. lucidum* и 4 штаммов (1530,1593,1672,1701) *G. applanatum* из различных климатических зон (Беларусь, Израиль, Россия, США, Чехия, Украина), хранящихся в Коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины. Состав питательной среды (г/л): глюкоза

– 25,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  – 4,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0.5, 10 мл раствора микроэлементов и  $\text{H}_2\text{O}$  (дистиллированная) – 1 л. До стерилизации среда имела следующие значения pH 3.2, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 и 7.3 Среду инокулировали биомассой определенного штамма в концентрации 0,2 г/л и инкубировали при температуре 28°C в течение 29 дней. Были изучены также питательные потребности всех штаммов обоих видов исследуемых культур при культивировании на глюкозо – аспарагиновой среде с учетом оптимального значения pH для каждого штамма. Для изучения влияния источника углерода на накопление биомассы в среду вместо глюкозы (контроль) вносили лактозу, сахарозу или крахмал в количестве, эквивалентном глюкозе по содержанию углерода. Для изучения влияния источника азота на накопление биомассы в среду вместо аспарагина (аспарагин) вносили  $\text{NaNO}_3$  или  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в количестве, эквивалентном аспарагину по содержанию азота. В качестве критерия оценки питательных потребностей культур и оптимального значения pH был выбран показатель концентрации биомассы.

На рисунке представлены результаты сравнительного исследования динамики накопления биомассы штаммов *G. lucidum* и *G. applanatum* в зависимости от pH среды. Установлено, что кривые зависимости накопления биомассы от значений pH среды имеют пики или плато. pH 5.0 способствовало наибольшему накоплению биомассы штаммами *G. applanatum* в диапазоне 8,4-13,7 г/л. Штаммы *G. lucidum* 1621 и 1903 накапливали наибольшее количество биомассы при pH 4.0 – 9,3 и 4,4 г/л соответственно. Пик накопления биомассы с показателем 7,7 г/л зафиксирован для штамма *G. lucidum* 922 при pH 5.5. Штамм *G. lucidum* 1889 и штамм *G. applanatum* 1593 накапливали одинаковое количество биомассы как при pH 5.0, так и при pH 5.5 (рис.).

Изучение питательных потребностей исследуемых культур свидетельствует о наличии штаммовой специфичности относительно источников углерода. Так, присутствие в среде крахмала способствовало максимальному накоплению биомассы штаммами *G. lucidum* 922 и 1903. Глюкоза была оптимальным источником углерода для накопления биомассы 3-х штаммов *G. applanatum* (шт.1530,1672,1701). Лактоза способствовала наибольшему накоплению биомассы только штаммом *G. lucidum* 1621. Эффективность биосинтеза биомассы зависела также от источника азота в питательной среде. Так, штамм *G. lucidum* 1621 при наличии в среде аммонийного или нитратного азота накапливал биомассу соответственно в 3,5 и 2 раза меньше, чем при внесении в среду аспарагина. В тоже время, присутствие в среде аммонийного азота способствовало большему накоплению биомассы штаммом *G. applanatum* 1593 (в 1,4 раза), штаммом *G. applanatum* 1701 (в 1,2 раза) по сравнению со средой с аспарагином. Наличие же в среде нитратного азота уменьшило накопление биомассы этими штаммами в 1,3 и 1,5 раза соответственно по сравнению с контролем.

Рис. Динамика накопления биомассы штаммами *G.lucidum* и *G.applanatum* при различных значениях pH



В целом, сравнивая физиологические характеристики штаммов обоих видов, необходимо отметить более высокую метаболическую активность культур *G.applanatum* при всех испытанных параметрах культивирования (pH питательной среды, различные источники углерода и азота) по сравнению с *G.lucidum*.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА РОСТ MORCHELLA STEPPICOLA

Кутковая О.В., Сухомлин М.Н.  
Донецкий национальный университет  
Украина

Представители *p. Morchella Dill.* (сморчки) являются ценными деликатесными грибами с изысканным вкусом и неповторимым ароматом, к тому же они обладают и важными лекарственными свойствами. Эти грибы издавна используются в медицинских целях племенами, живущими в Гималаях. Метаболиты грибов обладают адаптогенными и иммуностимулирующими свойствами, а также считаются одними из наиболее успешных противораковых агентов для клинического использования (Prasad и др., 2002). Так, Duncan и др. (2002) описали высокую фагоцитарную активность экстрактов плодовых тел *Morchella esculenta*. А при исследовании антиоксидантной активности стало известным, что спиртовые экстракты *Morchella vulgaris* и *Morchella esculenta* проявляют более высокий процент ингибирования перекисного окисления в системе линолевой кислоты (80 – 87%), чем общеизвестный антиоксидант –  $\alpha$ -токоферол (50 – 77%) (Elmastas и др., 2006).

При изучении антибактериальных свойств было выяснено, что сморчки проявляют узкий спектр действия. Так *M. conica* проявляет активность по отношению к *Staphylococcus aureus*, вызывающему инфекционные повреждения кожи, в связи с этим этот гриб рекомендуют использовать как агент для обработки повреждений кожи (Turkoglu и др., 2006). Исходя из вышесказанного, исследование представителей данного рода в культуре не вызывает сомнения. Нами проводится комплексное исследование редкого вида, занесенного в Красную Книгу Украины – *Morchella steppicola* Zer (сморчок степной). С этой целью подбирались оптимальные источники углеродного питания для данного вида.

Три штамма *M. steppicola* (MS-1, СС-КР, СС-Конст) культивировали на модифицированной глюкозо–пептонной среде с добавлением 7 различных сахаров (сахароза, лактоза, мальтоза, глюкоза, фруктоза, крахмал, дульцит), в количествах эквивалентных по содержанию углерода. Мицелий выращивали в течение 20 дней при оптимальной температуре – 25°C.

В результате исследований выяснено, что наибольший выход биомассы все три штамма продемонстрировали при добавлении сахарозы (MS-1 – 8,241±0,067 г/л, СС-КР – 8,079±1,027 г/л, СС-Конст – 8,507±0,608 г/л). Также высокое накопление биомассы отмечается на среде с мальтозой (MS-1 – 7,486±0,551 г/л, СС-КР – 7,928±0,516 г/л, СС-Конст – 8,245±0,247 г/л). А наименьший выход биомассы у штаммов MS-1 и СС-Конст наблюдался на среде с дульцитом (2,821±0,299 г/л и 2,961±0,179 г/л соответственно), а у СС-КР – на среде с лактозой (3,376±0,322 г/л). Лаг-фаза на всех средах для изученных штаммов составляет 12 часов.

Исследованные штаммы при добавлении различных сахаров по-разному изменяли кислотность среды. На среде с лактозой, мальтозой и дульцитом значение pH культурального фильтрата всех штаммов изменялось в щелочную сторону, а на среде с фруктозой все штаммы подкисляли культуральный фильтрат. При добавлении сахарозы, глюкозы и крахмала СС-КР и MS-1 подкисляли среду, а СС-Конст – подщелачивал среду.

В связи с тем, что склероции являются предшественниками плодовых тел нами исследовано влияние различных сахаров на способность формировать склероции. Так, было выяснено, что добавление дульцита полностью ингибировало формирование склероциев всеми штаммами, а штаммы СС-КР и MS-1 не формировали склероции еще и на среде с лактозой. На остальных средах все исследованные штаммы активно формировали склероции.

Таким образом, лучшими источниками углерода для выращивания *M. steppicola* на жидкой среде являются сахароза и мальтоза.

## СОВРЕМЕННЫЕ BIOTEХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *LENTINUS EDODES*

Никитина В.Е.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>1</sup>, Бабицкая В.Г.<sup>2</sup>,  
Щерба В.В.<sup>2</sup>, Пучкова Т.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии и физиологии растений  
и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

<sup>2</sup> Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Традиционно наиболее экономичным способом культивирования микроорганизмов является глубинное культивирование, позволяющее создать полностью контролируемые условия и добиться быстрого роста биомассы. Выращивание в глубинных условиях высших съедобных базидиальных грибов осуществилось значительно позднее по сравнению с бактериями или другими микроорганизмами. Значительно пополнились сведения о съедобных базидиальных грибах, способных расти в глубинной культуре, лишь в 60-70-е годы прошлого столетия. К настоящему времени можно считать доказанным принципиальную возможность получения пищевой биомассы съедобных грибов путем глубинного культивирования на жидких средах. Для отдельных видов показана высокая пищевая ценность культурального мицелия, его качественная полноценность и сходность биохимического состава с плодовыми телами грибов, произрастающих в природе, а также возможность путем направленного регулирования условий культивирования повышать в грибнице содержание белка, витаминов и других ценных питательных компонентов, получать биомассу с характерным грибным запахом. Возможность роста грибов рода *Lentinus* в глубинной культуре была впервые продемонстрирована для лентинуса чешуйчатого и тигрового (*Lentinus lepideus* Fr., *Panus tigrinus* (Fr.) Sing.) в 1955 г. Авторы установили ряд факторов, способствующих росту мицелия этих грибов. Если раньше глубинное выращивание *Lentinus* использовали только для получения пищевой биомассы, то с 80-х годов прошлого столетия, особенно в начале 21 века, области применения этого способа культивирования значительно расширились. В целом практическое использование высших съедобных базидиомицетов в чистой культуре возможно в нескольких основных аспектах: производство мицелия для пищевых и кормовых целей; производство посевного мицелия для получения плодовых тел; получение на основе культивирования мицелия съедобных грибов биологически активных и ценных химических веществ.

Несмотря на то, что *Lentinus edodes* (шиитаке) занимает ведущие позиции по объему промышленного производства, известен своими ценными пищевыми качествами и перспективностью использования для получения медицинских препаратов, существуют значительные пробелы в изучении

биохимических характеристик роста и развития *L. edodes* в глубинной культуре. Настоящая работа – краткое рассмотрение некоторых результатов наших исследований в обозначенных выше аспектах использования метода глубинного культивирования. Следует сначала упомянуть о том, что большая часть этих исследований так или иначе связана с изучением углеводсвязывающих белков – лектинов. Эти соединения, имеющие широкий спектр биологической активности, участвуют во внутриклеточных и межклеточных взаимодействиях, выступают в роли иммуномодуляторов и триггеров, широко используются в разных областях биологии, медицины. В то же время лектины высших ксилотрофных грибов мало изучены.

Глубинное культивирование считается эффективным методом получения посевного материала высших базидиомицетов для промышленного грибоводства и микологических исследований. Получение погруженной культуры в наиболее активном физиологическом состоянии требует изучения влияния добавок различной химической природы к известным жидким средам. Подбирая состав среды для выращивания глубинной культуры *L. edodes*, мы основывались на следующем предположении. Использование мицелия в качестве посевного материала наиболее успешно на стадии его развития, характеризующейся высокой активностью компонентов белковой природы, принимающих участие в плодоношении. Одной из стадий морфогенеза шиитаке считают коричневую мицелиальную пленку (МП) – бархатистое коричневое пленчатое образование, представляющее собой плотное сплетение толстостенных пигментированных гиф. Обнаружена интересная корреляция между появлением МП шиитаке и началом плодоношения, причем плодовые тела шиитаке также содержат коричневый пигмент. Лектиновая активность является важной биохимической характеристикой мицелия шиитаке в процессе морфогенеза. Ранее проведенные нами исследования приводят к выводам: во-первых, чем выше лектиновая активность мицелия, тем быстрее формируется МП; во-вторых, отмечается значительное увеличение лектиновой активности на этапе МП по сравнению с другими стадиями развития гриба. Лектины принимают участие в образовании МП и плодоношении. Следовательно, получение МП в глубинной культуре и использование этого мицелия в качестве посевного материала, весьма вероятно, приведет к положительным результатам при последующем формировании плодовых тел. Формирование МП приводит к резкому увеличению титров гемагглютинации экстрактов из мицелия, поэтому первоначально необходима оптимизация состава жидкой питательной среды по лектиновой активности. Наиболее эффективным, в рассматриваемом аспекте, аминокислотным источником азота является аспарагин. На средах с аспарагином лектиновая активность наиболее высока, однако и в этом случае появление МП наблюдалось только при возрасте культуры около 2 месяцев. Использовали добавки к синтетической среде с целью создания более благоприятных условий для формирования МП. Обнаружено влияние  $Mn^{2+}$  на сроки образования указанной морфологической структуры, изучены

зависимости титра гемагглютинации культуральной жидкости *L. edodes* от продолжительности выращивания. Оказалось, что более благоприятна для проявления лектиновой активности 1 мМ концентрация катиона. Установлено, что при концентрациях соли марганца 0,5 – 2 мМ происходит значительно ускоренное формирование МП шиитаке. Снижение лектиновой активности культуральной жидкости при образовании указанной морфологической структуры согласуется с обнаруженной нами высокой лектиновой активностью экстрактов из МП. При концентрациях  $Mn^{2+}$  до 2 мМ в среде культивирования наблюдался нормальный рост *L. edodes* при последующем пересеве глубинного мицелия из жидкой синтетической среды на чашки Петри с агаризованным суслом. Использование пигментированного мицелия из синтетических сред с  $Mn(II)$  в возрасте 10-14 суток в качестве жидкой культуры при пересеве на плотный питательный субстрат на основе опилок дуба и пшеничного зерна показало примерно двукратное сокращение сроков получения плодовых тел изучаемого штамма шиитаке по сравнению с непигментированным мицелием при прочих равных условиях эксперимента. Вышеизложенное позволяет говорить о технологически перспективном способе получения посевного мицелия шиитаке.

Несомненный интерес представляет исследование влияния ультрамикрорезлементов, в том числе селена, на рост и развитие съедобных грибов, поскольку одним из наименее изученных аспектов биохимии и физиологии высших грибов справедливо считается их отношение к различным микроэлементам. Описанные в литературе исследования связаны с применением в качестве источника селена неорганических солей. В своей работе мы использовали новое органическое соединение селена, низкая токсичность физиологических концентраций в сочетании с высокой эффективностью которого доказана ранее в отношении живых организмов. 1,5-Дифенил-3-селенпентандион-1,5 (препарат ДАФС-25) является одним из немногочисленных селеноорганических соединений, внедренных в практику. Исследована зависимость лектиновой активности и ростовых характеристик *L. edodes* от присутствия в жидких средах ДАФС-25. Наблюдается стимуляция процесса накопления биомассы при глубинном культивировании в присутствии селеновых добавок; относительно быстрорастущий мицелий более подвержен позитивному влиянию препарата. Под воздействием ДАФС-25 лектиновая активность как культуральной жидкости, так и экстрактов из мицелия *L. edodes* в наибольшей степени возрастает в случае синтетической среды, характеризующейся высокой активностью внеклеточных лектинов изучаемой культуры и сравнительно низкой лектиновой активностью экстрактов из мицелия в отсутствие ДАФС-25. Применение препарата в процессе получения посевного мицелия представляется перспективным.

Исследование некоторых внешних биотических факторов, стимулирующих рост глубинного мицелия *L. edodes*, привело нас к получению небезынтересных результатов по совместному культивированию шиитаке

с почвенными азотфиксирующими бактериями *Azospirillum brasilense*, стимулирующими рост многих растений.

Получение на основе жидкой культуры съедобных грибов биологически активных и ценных химических веществ – еще один аспект использования метода глубинного культивирования – также нашел определенное отражение в наших исследованиях. Из культуральной жидкости *Lentinus edodes* выделены и очищены препараты лектинов. Проведена оптимизация методики выделения лектинов. Получены и охарактеризованы образцы белков с гемагглютинирующей активностью, экскретируемых глубинной культурой *L. edodes* F-249. SDS-PAGE растворов очищенных препаратов двух внеклеточных гемагглютининов L1 и L2 показал, что оба белка мономерны, характеризуются молекулярными массами 43 и 37 кДа соответственно. Определение углеводной специфичности показало, что качественно (по набору углеводов) эта специфичность у двух лектинов одинакова, но имеются количественные различия. Установлено, что внеклеточные лектины *L. edodes* F-249 являются гликопротеинами, однако содержание углеводов в L2 значительно выше, чем в L1. Высокое содержание аспарагиновой кислоты и ее амида в составе L2 согласуется с нашими данными об избирательном положительном эффекте аспарагина в отношении формирования коричневой мицелиальной пленки *L. edodes* в глубинной культуре. Проведен сравнительный анализ гемагглютинирующей активности внеклеточных лектинов в зависимости от типа эритроцитов и их предварительной обработки, на разных стадиях очистки препаратов этих белков. Наиболее чувствительным тест-объектом для лектинов *L. edodes* оказались эритроциты кролика. Обработка эритроцитов трипсином значительно повышала чувствительность реакции. Очищенные внеклеточные лектины *L. edodes* не реагировали с эритроцитами других животных и человека.

В последнее время пристальное внимание исследователей привлекает создание различных косметических средств на основе природного сырья, в частности, лекарственных и съедобных базидиомицетов. В состав немногочисленных на сегодняшний день подобных косметических препаратов входят экстракты из плодовых тел некоторых грибов. Получение глубинного мицелия как источника биологически активных веществ является наиболее перспективным. Нами изучена возможность использования при изготовлении питательных кремов, масок, лосьонов комплекса натуральных биологически активных соединений нативной мицелиальной формы шиитаке или водно-спиртовых экстрактов из нее в зависимости от вида производимого косметического средства. Для создания косметических композиций, основанных на использовании питательных, противовоспалительных, регенерирующих, омолаживающих, антистрессорных и антиоксидантных свойств грибов, применяли не только *Lentinus edodes*, но и экстракты из мицелия *Pleurotus ostreatus* (вешенка обыкновенная), *Flammulina velutipes* (опенок зимний), *Ganoderma lucidum* (рейши), *Grifola frondosa* (грифола курчавая). Косметические средства, выполненные в виде крема, лосьона, в

качестве активной биологической добавки содержали 5 – 25 %-ные водно-спиртовые экстракты из мицелия грибов. Для приготовления косметических масок применяли нативный мицелий, предварительно диспергированный, что способствует лучшему проникновению питательных веществ через кожу. Основа косметического средства, в которую вносилась биологически активная добавка из грибов, была постоянной и содержала компоненты в определенных соотношениях в зависимости от вида средства: крем, маска, лосьон. Биологически активная добавка косметического средства может включать один вид грибов или их различное сочетание, что по нашим наблюдениям усиливало эффект. Результаты проведенного исследования позволяют расширить ассортимент натуральных биологически активных добавок и показывают большую перспективность использования целебных и съедобных грибов в мицелиальной форме для приготовления различных косметических композиций.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 06-04-81042.*

## **АГАРИКОВЫЕ ГРИБЫ, КАК КОМПОНЕНТ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА**

*Петров А.Н., Ряпис О.В.*

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН  
Иркутский научно-исследовательский противочумный  
институт Сибири и Дальнего Востока  
Иркутск*

В 2006 году в лаборатории бруцеллеза Иркутского противочумного института начаты экспериментальные работы по изучению роста вакцинного штамма бруцелл – *Brucella abortus 19 VA* – на среде, питательной основой которой являлся настой лесных съедобных и несъедобных грибов.

В эксперимент взяты свежие и высушенные грибы, собранные в окрестностях Иркутска. Пока апробированы лишь некоторые типичные представители порядка *Agaricales s.l.* из родов *Collybia*, *Clitocybe*, *Agaricus*, *Pholiota*, *Russula*, *Lactarius*.

Измельченную грибную массу настаивали на дистиллированной воде и настоем агаризовали для получения плотной питательной среды. В ходе опытов в среду добавляли дополнительно компоненты, содержащие солевые растворы, витамины, АТФ, глицерин и глюкозу. Среду стерилизовали автоклавированием в стандартных режимах.

Чувствительность грибной агаризованной среды изучали путем посева на пластинчатый агар 10 и 100 КОЕ (по бактериальному стандарту мутности) двухсуточной культуры вакцинного штамма *B. abortus 19 VA*.

В качестве контрольных сред использовали стандартный эритрит-агар, рекомендуемый для культивирования бруцелл, а также среды на основе свиного и куриного бульона.

Полученные предварительные результаты эксперимента показали, что грибная агаризованная среда является хорошим питательным субстратом для роста *B. abortus* 19 BA. При посевной дозе 10 КОЕ наблюдался рост 3-7 колоний, при посевной дозе 100 КОЕ – 34-100 колоний бруцелл.

Рост отмечен на средах всех испытанных вариантов, в том числе на нативной и при включении в нее дополнительных ингредиентов. Есть основания полагать, что при соответствующем подборе компонентов на основе грибных экстрактов можно получить питательные среды для культивирования не только возбудителя бруцеллеза, но и некоторых других патогенных микроорганизмов.

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ГУМИСОЛ ФУРОР» И ИОНОВ СА НА ОНТОГЕНЕЗ ГРИБОВ ВЕШЕНКИ (PLEUROTUS OSTREATUS) ШАМПИНЬОНОВ (AGARICUS BISPORUS) И ЗИМНЕГО ОПЕНКА (FLAMMULINA)**

*Польских С.В., Аксеновская В.Е., Федюшина В.А., Демченко Р.А.  
Воронежский Государственный Аграрный университет имени К.Д. Глинки*

Эксперименты проводились в лаборатории биотехнологии при Воронежском Государственном Аграрном университете им. К.Д. Глинки. Для получения мицелия штаммы грибов были получены из ботанического института имени В.Л. Комарова РАН г. Санкт Петербурга.

Для проведения эксперимента в агаризованную среду добавляем в 1 вариант – 0,001 мл раствора  $\text{CaCl}_2$  растворенный в 10 мл воды, 2 – раствор «гумисола» в концентрации 0,001 г/мл. Затем среды автоклавировали при 1,5 атм. В течение 1 часа, разливали по чашкам. В центр чашке помещали кусочки агаризованной среды с мицелиальной культурой данных грибов. Далее чашки зарастали в темростате при температуре 24-26°C. Измерение скорости роста проводили каждые двое суток до полного зарастания чашек. Эксперимент длился 10 дней. В ходе эксперимента было выяснено, что мицелий опенка и шампиньонов растет быстрее на чашках с «гумисолом», чем на чашках с «кальцием». Вешенка растет одинаково в любых вариантах, но зарост происходит быстрее на 4-5 дней, чем опенок и шампиньон. Далее культуру с чашек Петри переносили на зерновой субстрат – основа – пшеница. Субстрат выбирали методом подбора зерна, на котором лучше всего растут взятые штаммы базидиомицетов. Измеряли линейный рост, скорость роста мицелиальной культуры грибов каждые двое суток.

В дальнейшем, для проведения эксперимента были отведены помещения для выращивания товарного гриба. В помещениях находился мицелий всех грибов. Контрольные партии мицелия размещались в аналогичных помещениях с такими же климатическими параметрами. В экспериментальной и контрольной партиях использовался мицелий штаммов вешенки, зимнего опенка, шампиньонов, которые были выращены с добавлением препаратов «Гумисола Фулор» и ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Инокуляция происходила одновременно, для чего использовался одно-возрастной маточный мицелий вышеназванных штаммов вешенки, шампиньонов, зимнего опенка. Оценка скорости роста мицелия проводилась визуально. В экспериментальных партиях разрастание гифов происходило на 1-2 суток раньше, чем в контрольной партии. Полный захват субстрата в экспериментальных группах вешенки происходил на 9-10 сутки, шампиньонов на 21-25 сутки, зимнего опенка на 13-16 сутки в контрольных партиях – вешенка на 14-15 сутки, шампиньоны на 38-41, зимнего опенка – 16-19 сутки. В экспериментальных партиях вешенки субстрат был готов к плодоношению грибов на 14-17 сутки, в контрольной – на 21-25 сутки. В экспериментальной партии зимнего опенка субстрат был готов к плодоношению на 19 сутки, в контрольной – 26-29 сутки. Что касается шампиньонов, то до покрова – субстрат готов на 24-25 сутки, а контрольный вариант на 39 сутки, плодовые тела на контрольных образцах появились на две недели позже, чем на опытных (39 сутки).

Суммарный брак каждого сорта грибов за весь отчетный период в экспериментальной партии составил  $\approx 2,1\%$ , в контрольной партии брак составил  $\approx 7,75\%$ . Мицелий в экспериментальной партии обладает более высокой жизненной силой (при разламывании гомогенного куска мицелия на отдельные зерна, связи восстанавливаются в 1,5-2 раза быстрее, чем в контрольной партии). На рост мицелия в экспериментальной партии не влияло понижение температуры в выростном помещении (с  $20^\circ\text{C}$  до  $1^\circ\text{C}$ ). В контрольном помещении при подобном снижении температуры рост мицелия приостановился и возобновился лишь после повышения температуры.

Так же в контрольных помещениях вешенки и зимнего опенка проводилось досвечивание блоков течения 5 часов в сутки для уменьшения вытягивания ножек плодовых тел. Вытягивание ножек происходило из-за недостатка освещения в помещениях. Все это приводило к тому, что плодовые тела не соответствовали стандартам качества. Однако, в экспериментальных помещениях вешенки и опенка досвечивание не проводили так как плодовые тела принимали нормальную форму при развитии шляпок. Шляпки грибов отвечали стандартам качества. Что касается шампиньонов, то сравнивать их в этом случае нельзя в связи с отличающей технологией выращивания.

В контрольном помещении у грибов шампиньонов, опять, вешенки периода отдыха не отмечалось, однако в контрольных помещениях период отдыха между волнами у вешенки составил 10 суток, у опенка  $\sqrt{16}$  дней, у шампиньонов 15-18 суток. Общая урожайность за период плодоношения

(первая волна) составил контроль: вешенка – 15 %, опенок – 19%, шампиньоны – 13%, опытный участок: вешенка – 25,5%, шампиньоны – 22,7%, опята – 23,8%. При определении ионов в мицелии и плодовых телах в контрольных образцах оказалось на 12,3% содержания ионов кальция ниже, чем в опытных образцах разных штаммов. Таким образом, при проведении экспериментов было установлено,

- сократился срок созревания мицелия в среднем на 6 вешенка, опенок-15 суток шампиньон.

- снизился процент бракованного мицелия в среднем на 5,55% .

- на рост мицелия в экспериментальных группах не влияло временное понижение температуры в помещении (до +40°C – +60°C), в то время как в контрольной партии рост замедлился.

- срок полного охвата субстрата сократился почти в 2 раза (с 18-20 суток в контрольной партии до 8-10 суток в экспериментальной партии);

- время появления первых сростков снизилось в 1,5 раза;

- брак при инкубации снизился с 8,2% в контрольной партии до 1,3% в экспериментальной партии;

- снизилось влияние временного снижения температуры в помещении на рост и развитие блоков экспериментальной партии;

- повысилась урожайность с в 1,8-2,8 раза.

- уменьшилось воздействие негативных климатических факторов (колебания температуры, малая освещенность и т.д.) на рост и развитие плодовых тел;

- сократились до минимума периоды отдыха между волнами плодоношения, что привело к сокращению сроков получения максимального урожая.

## **ЭКОЛОГО-ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ В КУЛЬТУРЕ У МАКРОМИЦЕТОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ИНТЕРЕС ДЛЯ МЕДИЦИНЫ**

*Псурцева Н.В., Кияшко А.А., Шахова Н.В.  
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН  
С.-Петербург*

Базидиальные макромицеты хорошо известны как продуценты разнообразных биологически-активных веществ, имеющих значение для медицины (Wasser, Weis, 1999). Опыт использования плодовых тел грибов для лечения различных заболеваний уходит корнями в далекое прошлое и продолжает активно накапливаться в наши дни (Денисова, 1998; Wasser et al., 2005). Перспективной возможностью применения высших грибов является разработка на их основе пищевых биологических добавок (Горовой, 2003). Однако, сбор

плодовых тел в природных условиях лимитирован множеством неконтролируемых факторов (погодные условия, сезонность, и т.д.) и не может служить надежной основой для фармакологического производства. Решить эту проблему возможно при помощи искусственного культивирования грибов с использованием чистых культур биологически активных макромицетов. Однако, до сих пор лишь незначительное число видов культивируется в промышленных масштабах с целью получения плодовых тел. Для большинства видов механизмы плодообразования и возможность получения его в культуре не выяснены. Поиск возможностей получения телеоморфы в культуре помимо чисто практического имеет и существенное теоретическое значение. Это связано с исследованием различных онтогенетических, физиолого – биохимических и генетических аспектов плодообразования, позволяющих сформировать стратегию отбора штаммов и увеличения урожайности в промышленном грибоводстве. На основании анализа литературного материала, опубликованного в отечественной и зарубежной периодике определены основные достижения и современные тенденции мировых исследований в области получения и изучения процесса плодообразования в культуре. Отмечено, что различные вопросы образования плодовых тел *ex situ* изучались не менее чем у 55 видов агарикоидных, афиллофороидных и некоторых гетеробазидиальных грибов. При этом наиболее исследованными являются широко известные культивируемые съедобные и/или лечебные виды *Flammulina velutipes*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Agrocybe aegerita*, *Agaricus bisporus*, *Ganoderma lucidum* и такие удобные модельные объекты для экспериментальных работ как *Schizophyllum commune* и виды р. *Coprinus*. В литературе широко обсуждается влияние ряда абиотических факторов (состава питательных сред, освещения, концентрации диоксида углерода, температуры и влажности) на регуляцию процесса карпогенеза. Наиболее существенным из них является свет. Например, установлено, что начало плодообразования у некоторых видов обеспечивается освещением, а развитие плодовых тел синхронизировано световым – темновым ритмом, обусловленным естественным циклом «день-ночь» (Borriss, 1934; Ballou, Holton, 1985; Кьес, 2000; и др.). Длина световой волны влияет на размеры и пигментацию спорокарпов (Miller, 1980). Концентрация диоксида углерода оказывает воздействие на морфогенез плодовых тел (Kinugawa et al., 1994; и др.). Обсуждаются трофические потребности макромицетов различных экологических групп, а также предлагаются различные по составу питательные среды, стимулирующие плодоношение в культуре (Takács, 1974; Leatham, 1983; Не, Suzuki, 2003; и др.). Среди биотических факторов, стимулирующих плодообразование, отмечена роль некоторых микроорганизмов, индуцирующих образование примордиев (Hayes et al., 1969; Reddy, Patrick, 1990; Hume, Hayes, 1972; и пр.). Таким образом, успех в получении плодовых тел в лабораторных условиях зависит от оптимального сочетания различных, главным образом абиотических факторов, не всегда совпадающих у представителей различных экологических и таксономических групп. Наблюдения в культу-

ре расширяют возможности для онтогенетических исследований. Помимо традиционного изучения стадийности развития карпофоров, в настоящее время выявлены процессы, происходящие в культуре гриба непосредственно перед образованием примордиев (Matthews, Niederpruem, 1972; Кьес, 2000; и пр.). Другим направлением онтогенетических исследований *ex situ* является уточнение этапов жизненного цикла и особенностей морфологических структур, соответствующих этим этапам, у некоторых видов грибов (Nguen et al., 2006). Обширный пласт литературы посвящен выявлению экзо- и эндогенных веществ-индукторов и регуляторов плодообразования, а также механизмов регуляции процессов развития (De Groot et al., 1998; Butler et al., 2000; и др.). В ряде работ обсуждаются вопросы генетического контроля образования плодовых тел у некоторых видов макромицетов и их селекции (Meinhardt, Esser, 1981; Marmesse, 1989; и т.д.). Таким образом, прогресс в изучении механизмов инициации и протекания карпогенеза у базидиальных макромицетов достигнут лишь на примере ограниченного числа модельных видов.

Однако, для большинства поддерживаемых в культуре базидиальных макромицетов особенности формирования стадии телеоморфы в чистой культуре до настоящего момента не описаны. Список биологически активных макромицетов, пригодных для изготовления медицинских препаратов и пищевых добавок, значительно превышает перечень искусственно культивируемых видов. Современное развитие фармакологии нуждается в расширении числа таксонов макромицетов, достигающих стадии телеоморфы в культуре и подходящих для промышленного разведения. Продуктивный результат в этом направлении может быть достигнут, если использовать чистые культуры макромицетов и руководствоваться эколого-таксономическим подходом при их отборе.

Способность к плодообразованию в культуре во многом зависит от таксономической и экологической принадлежности гриба. Некоторые виды сапротрофных грибов могут легко образовывать примордии прямо в коллекционных пробирках или на агаризованной питательной среде в чашках Петри. У одних видов такие примордии развиваются в плодовые тела со зрелыми базидиоспорами, у других – так и остаются недоразвитыми. Для успешного получения плодовых тел различных видов грибов, выбранных для культивирования, необходимо владеть определенными сведениями об их трофике и экологических условиях плодообразования в природе, учитывая а) субстрат, б) температуру, в) влажность, г) освещенность, д) величину плодовых тел. Принадлежность к трофической группе определяет тип питания грибов. Исходя из этого, их делят на три группы: паразиты, сапротрофы и эктомикоризные грибы. При изучении процесса плодообразования обычно используют виды, относящиеся к группе сапротрофов, которая в свою очередь подразделяется на несколько субстратоспецифичных групп: ксилотрофы – дереворазрушающие грибы (наиболее распространены), гумусовые сапротрофы, копротрофы и подстилочные сапротрофы. В прак-

тическом грибоводстве выращивают, в основном, грибы также из группы сапротрофов. Культивирование эктомикоризных грибов значительно труднее. Обычно их пытаются выращивать на делянках в природных условиях, подсаживая мицелий в места естественного обитания. Получение плодобразования микоризных грибов *in vitro* требует особых условий. Чаще всего это создание в эксперименте микоризы или подбор особых субстратов для культивирования. Случаи получения плодобразования у микоризных грибов в лабораторных условиях редки, и информация о них в микологической литературе немногочисленна (Ohta, 1994; Yamanaka, 1994).

На материале Коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН – ЛЕ (БИН) изучена возможность получения генеративной стадии у значительного числа культур, принадлежащих к различным группам сапротрофных макромицетов. В работу было вовлечено свыше 250 культур 152 видов из 86 родов, принадлежащих к 33 семействам и 7 порядкам (распределение таксонов дано по системе, принятой в 9-м издании Словаря грибов Айворта и Бисби). В результате эксперимента, проведенного в чашках Петри на агаризованном (20%) неохмеленном пивном сусле (40 по Баллингу), генеративную стадию (зрелые плодовые тела или примордии) удалось получить у культур, принадлежащих к 80 видам. Часть таксонов из данного числа впервые исследована в этом отношении (*Antrodiella faginea*, *Asterophora lycoperdoides*, *Auriscalpium vulgare*, *Collybia cookie*, *C. tuberosa*, *Inonotus obliquus*, *I. tamaricis*, *Irpex murashkinskyi*, *Marasmius spp.* и пр.). Ряд видов имеет ресурсное значение как съедобные (виды родов *Agrocybe*, *Flammulina*, *Hericium* и *Pleurotus*, *Lentinula edodes* и др.) и обладающие высоким окислительным потенциалом (*Antrodiella faginea*, *Irpex murashkinskyi*, *Steccherinum adustum*, *Trametes gibbosa* и др.). Медицинское применение находит 21 вид: *Agrocybe aegerita*, *Flammulina fennae*, *F. rossica*, *F. velutipes s.str.*, *Ganoderma lipsiense* (= *G. applanatum*), *G. lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceus*, *Hypsizygus ulmarius*, *Inonotus obliquus*, *Irpex lacteus*, *Lentinula edodes*, *Lenzites betulina*, *Marasmius androsaceus*, *Oudemansiella mucida*, *Panellus serotinus*, *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *Polyporus umbellatus*, *Schizophyllum commune*, *Xerula radicata*. Почти все перечисленные виды образовывали полностью зрелые карпофоры на чашках Петри в условиях стандартного светового ритма («день – ночь») при температуре 20±20°C.

Для изучения условий, влияющих на процесс плодобразования, часть ксилотрофных культур были выращены на древесном субстрате. При выборе субстрата для культивирования, из всего многообразия возможных вариантов, мы руководствовались принципом подбора субстрата, наиболее приближенного к природному. При целенаправленном выращивании плодовых тел грибов в лабораторных условиях чаще всего используют твердые субстраты: смесь опилок или соломы с отрубями. Опилки, как правило, предпочтительно выбирать лиственных пород деревьев, таких как береза (*Betula spp.*), тополь, осина (*Populus spp.*), вяз (*Ulmus spp.*), ива

(*Salix spp.*), Следует проявлять осторожность при использовании дубовых (*Quercus spp.*) опилок. В некоторых случаях дубовые опилки являются необходимым компонентом субстрата (например, при культивировании *Lentinula edodes* – шиитаке), однако, при культивировании других грибов они могут препятствовать быстрому освоению субстрата этими грибами. Солому и отруби можно использовать любые – пшеничные, рисовые, овсяные и др. При выборе параметров культивирования – температуры, влажности, аэрации и освещенности предпочтительно соблюдать условия также приближенные к естественным. Размер плодовых тел важно учитывать при определении количества субстрата и способа культивирования. Выбор способа культивирования, который бы наиболее соответствовал выращиваемому виду и поставленной задаче, также имеет большое значение. Многовековая практика грибоводства во всем мире показывает, что существуют разные способы культивирования. Так, виды *Pleurotus* (вешенку) можно выращивать как на обрубках листовенных пород деревьев, так и на субстратных блоках или в пластиковых мешках различного размера. Виды *Flammulina* (зимний гриб) обычно выращивают в глиняных сосудах или пластиковых мешках, виды *Hypsizyguis* (хипсизигус) и *Grifola frondosa* (гриб-баран) – в пластиковых бутылках, *Dictyophora indusiata* (дама с вуалью) – на погребенных бамбуковых кусочках. В наших экспериментах был использован наиболее универсальный способ культивирования (субстрат – опилки с отрубями 3:1), который давал стабильный эффект на протяжении ряда лет. В результате при твердофазном культивировании, генеративная стадия была получена у 26 видов базидиомицетов, из которых в медицине могут быть использованы: *Flammulina ononidis*, *F. populicola*, *F. rossica*, *F. velutipes s.str.*, *Ganoderma lucidum*, *Hypsizyguis ulmarius*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus cornucopiae*, *P. ostreatus* и *P. pulmonarius*. Почти все макромицеты, образовавшие в культуре генеративную стадию, представлены в Коллекции ЛЕ (БИН) несколькими штаммами имеющимися, как правило, различное географическое происхождение.

Таким образом, Коллекция обладает достаточными ресурсами для отбора наиболее продуктивных штаммов и может быть востребована для селекции фармакологически перспективных видов.

Исследования в этом направлении поддерживаются грантом РФФИ 06-04-49043 и Программой ОБН РАН «Биологические ресурсы России: фундаментальные основы рационального использования».

## БИОЛОГИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА *AGROCYBE* *AEGERITA* (BRIG.) SINGER

Соломко Э.Ф., Ломберг М.Л.

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

Высший базидиальный гриб агроцибе теплолюбивое – *Agrocybe aegerita* (Brig.) Singer из порядка Agaricales, семейства *Bolbitaceae* (син.: *Agaricus brigantii* Fr., *Agrocybe cylindraceae* (DC: Fr.) Maire, *Pholiota cylindraceae* (DC: Fr.) Kunt. и др.) давно известен в странах Средиземноморья как хороший съедобный гриб под названиями тополиный опенок, черный тополиный гриб, Риоррино в Италии и Испании. Его китайское название переводится как южный тополиный гриб, а в Японии он известен как *Yanagi-matsutake*. Наиболее широко распространенное в англоязычной литературе название – черный тополиный гриб (*The Black Poplar Mushroom*) отражает характерную особенность *Agrocybe aegerita*, мясистая шляпка которого в молодом возрасте имеет темно-коричневую или почти черную окраску. В природных условиях этот дереворазрушающий сапротрофный гриб встречается группами на пнях широколиственных пород деревьев в теплых регионах Европы, Азии, Африки и Америки. На юге Европы (в Италии, Франции, Испании) он чаще всего растет на пнях тополя, а северная граница его распространения отмечена в Южной Словении. На юго-востоке США *A. aegerita* растет на древесных остатках хлопкового дерева, ивы, тополя и клена, а в Китае предпочитает древесину чайного дерева [Stamets, 2000].

В странах с теплым климатом первые успешные попытки экстенсивного культивирования тополиного опенка в природных условиях были приняты еще в 50-х годах XX века [Huang, 1984]. К 1978 году *A. aegerita* в небольших объемах культивировали интенсивным методом на Научной станции в Хорсте (Нидерланды), в Японии, Болгарии и некоторых других странах. Учитывая хорошие вкусовые качества гриба, *A. aegerita* был признан как вид, потенциально перспективный для промышленного грибоводства [Delmas, 1978]. Известно, что интенсивный способ культивирования этого гриба требует стерилизации субстрата, в качестве которого, как правило, используют опилки тополя, дуба, ольхи, клена и других подходящих пород деревьев, обогащенные различными азотсодержащими добавками. В последние годы коммерческое культивирование тополиного опенка развивается в Китае, США, Испании, Словении, Греции и ряде других стран, соответственно увеличилось и число публикаций, посвященных характеристике скорости роста мицелия *A. aegerita* на средах различного состава, поиску оптимальных параметров культивирования и подбору состава субстратов подходящих для плодоношения из числа различных лигноцеллюлозных отходов (опилки тополя и дуба, солома злаков, отходы переработки хлопка, кукурузы, плодов оливкового дерева, земляного ореха и др.). Аналогичные

исследования актуальны и для оценки возможностей расширения объектов грибоводства на отходах отечественного растениеводства.

В нашем исследовании были использованы 6 штаммов *A. aegerita*, хранящиеся в Коллекции культур шляпочных грибов Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины на сусло-агаровой среде (СА, 8еБал.) при +4-8°C. При выращивании культур на СА в чашках Петри при 26°C радиальная скорость роста штаммов весьма различалась и была в диапазоне от 1,9 до 5,3 мм/день. Более высокая скорость роста мицелия *A. aegerita* (от 3,2 до 6,4 мм/день) отмечена нами на пшеничном агаре и овсяном агаре. Колонии всех исследованных культур ватоподобные и белые в молодом возрасте, становились со временем пятнисто-пигментированными. Желтовато-коричневый пигмент более обильно образовывался на богатых органических средах, содержащих пептон (МРА, МУРА и др.). При экспозиции на свету на поверхности агаризованных и жидких питательных сред у отдельных штаммов наблюдалось формирование примордиев и плодовых тел с характерными морфологическими признаками. Оптимум температуры для роста мицелия культур *A. aegerita* различается и для исследованных штаммов находится в диапазоне от 26 до 30°C. Скорость роста мицелия всех исследованных культур существенно снижается при 24°C и 18°C, а при 34°C и 37°C рост вовсе отсутствует. Вместе с тем, в отличие от многих других видов базидиальных грибов, культуры *A. aegerita* не гибнут в течение 10-14 дней инкубации при 37°C и возобновляют рост при снижении температуры до 28°C. Дальнейшие исследования показали, что максимальная скорость роста мицелия отдельных штаммов при найденных благоприятных параметрах культивирования на подобранных агаризованных средах может достигать 8-10 мм/день, а в глубинной культуре на жидких средах с органическим азотом 1,7 г/л/день [Lomberh et al., 2002; Solomko et al., 2003]. При использовании глубинной культуры в качестве инокулюма, посевной мицелий отобранных штаммов *A. aegerita* на зерне пшеницы был получен после 10-12 дней инкубации. Его использовали для изучения роста и плодоношения культур тополиного опенка на различных стерилизованных растительных субстратах, включая такие отходы сельского хозяйства как костра льна, измельченные кукурузные кочерыжки, пшеничная солома, лузга семян подсолнечника и др. Наиболее короткий период колонизации субстрата наблюдался на буковых опилках, обогащенных кукурузной мукой или пшеничными отрубями (20 дней). Медленное обрастание было на небогатых опилках (44 дня). Большинство других субстратов обрастали мицелием селективных штаммов за 24-25 дней. Примордии формировались начиная с 40 дня от момента инокуляции и, в первую очередь, на комбинациях субстратов, содержащих лузгу семян подсолнечника. В экспериментальных условиях мы получили 2 волны плодоношения на большинстве испытанных субстратов с выходом от 15 до 20%. Максимальный выход свежих плодовых тел составил 25% от массы влажного субстрата комплексного состава, включающего комбинацию опилок и лузги подсолнечника. Таким образом, полученные результаты позволяют

констатировать перспективность дальнейших исследований физиологии *A. aegerita* в направлении оптимизации условий культивирования этого вида. Это тем более актуально, что в последние годы к *A. aegerita* проявляется повышенный интерес как к объекту новых биотехнологий.

*Agrocybe aegerita* и ряд близкородственных видов (*A. dura*, *A. praecox* и др.) давно известны как продуценты антибиотиков полиацетиленовой природы. Комплексные препараты, названные агроцибином и эгеритином активны против грамположительных и грамотрицательных кислото-резистентных бактерий, а также грибов [Semerdhieva, 1986]. В последние годы внимание исследователей разных стран сосредоточено на исследовании ряда других биологически и фармакологически активных метаболитов *A. aegerita*. Из плодовых тел *A. aegerita* китайскими исследователями был изолирован и изучен лектин, названный AAL, обладающий сильным ингибирующим действием на рост ряда модельных линий раковых клеток человека (*HeLa*, *SW480*, *SGC-7901*, *HL-60* и др.) и мышей (саркома S-180). Авторы исследования полагают, что AAL индуцирует апоптоз и активность ДНКазы [Zhao et al., 2003; Yang et al., 2005]. Биотехнологический интерес представляет и недавно обнаруженная у *A. aegerita* галопероксидаза, обладающая рядом уникальных свойств как биокатализатор [Ullrich et al., 2004; Hofrichter, Ullrich, 2006].

## **СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАЗИДИОМИЦЕТА GRIFOLA FRONDOSA (FR.) S.F. GRAY И РИЗОБАКТЕРИИ AZOSPIRILLUM BRASILENSE: ЗНАЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ПЕРВИЧНОМ КОНТАКТИРОВАНИИ**

*Степанова Л.В., Никитина В.Е., Шелудько А.В.*  
*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН*  
*Саратов*

Проблема увеличения производства биомассы съедобных культивируемых грибов не теряет своей актуальности в силу повышенного спроса на этот продукт на пищевом и фармацевтическом рынках. Как отмечено многочисленными исследованиями ученых разных стран, в состав плодовых тел таких базидиомицетов как *Pleurotus ostreatus* (вешенка), *Agaricus bisporus* (шампиньон), *Lentinus edodes* (шиитаке), *Flammulina velutipes* (зимний опенок), *Ganoderma lucidum* (трутовик лакированный), *Grifola frondosa* (гриб-баран) входит большое количество полезных веществ, в том числе обладающих уникальными противоопухолевыми, иммуномодулирующими свойствами. Эти грибы являются лидерами мирового промышленного культивирования, за исключением *G. frondosa*, производящегося в малых объемах, несмотря

на исключительные свойства биомассы этого гриба (к настоящему времени из плодовых тел, в отдельных случаях достигающих 10-12 кг каждое, и мицелия выделено около 30 биологически активных веществ). Проблема в том, что, несмотря на очевидную нужность культивирования грибов в промышленных масштабах, производство грибов остается по сегодняшний день одним из самых трудоемких и дорогостоящих. Рентабельность небольших грибоводческих хозяйств, которыми представлено культивирование грибов в России, зачастую невелика. Одна из главных причин этого заключается в биологии грибов – базидиомицетов, кардинально отличающейся от биологии растений и животных и потому предъявляющей особые требования к уровню организации производства. Знание особенностей жизненного цикла базидиомицетов на биохимическом уровне, а также способов какого-либо воздействия с целью биологической модификации процессов развития грибов для качественного и количественного ускорения их роста (в отличие от способов производственной модификации, как правило, связанных с излишними затратами), могут стать эффективным решением проблем грибоводства.

В последние годы, решая проблемы оптимизации сроков выгона плодовых тел, а также слабой конкурентоспособности товарного мицелия базидиомицетов в отношении микроскопических грибов, микологи и биотехнологи предлагают подготовку так называемого защищенного мицелия. Создание кокультуры базидиомицета с одним или несколькими штаммами бактерий, обладающих полезными для роста мицелия, а также фунгицидными либо фунгистатическими свойствами, сокращает сроки колонизации субстрата мицелием и делает его устойчивым к заражению вредными контаминантами. Как правило, используемые для этих целей штаммы бактерий относятся к группе PGPB (*Plant Growth Promoting Bacteria*), известные способностью оказывать положительное влияние на рост и развитие растений, благодаря способности к фиксации атмосферного азота, продукции фитогормонов, а также биоконтролю фитопатогенов. Очевидно, благоприятное взаимодействие этих бактерий с высшими грибами основывается на схожих аспектах.

Ранее нами было показано, что посевная смешанная культура базидиомицета *Lentinus edodes* [Berk.] Sing. F-249 и грамотрецательной diaзотрофной ризобактерии *Azospirillum brasilense* Sp7 давала положительный эффект в плане ускорения колонизации субстрата и повышения устойчивости к конкурентам на твердом опилочно – зерновом субстрате только в случае предварительного совместного глубинного культивирования на адаптированной среде не менее 14 сут. При обработке опилочно – зернового субстрата суточной жидкой культурой клеток азоспирилл непосредственно перед инокуляцией чистой грибной культуры подобного эффекта не наблюдали. Следовательно, позитивное воздействие в кокультуре спровоцировано не столько самим фактом присутствия полезных бактерий, сколько взаимным влиянием культур и формированием при этом особых адаптивных механиз-

мов их совместного развития, становление которых связано со временем. Сущность этих механизмов к текущему моменту практически не изучалась. Но, несомненно, первым и наиболее важным этапом является процесс взаимного распознавания как комплекса биоспецифических реакций, следствием которых является определенный биологический ответ каждого из организмов. Одной из таких биоспецифических реакций является углевод – белковое распознавание с участием лектинов, способных к избирательному взаимодействию с углеводными структурами.

При изучении некоторых свойств лектина, выделенного с поверхности мицелия базидиального ксилотрофа *Grifola frondosa* (Fr.) S.F. Gray 0917, нами была установлена его необычная углеводная специфичность к О-полисахариду (ОПС) мембранного липополисахарида (ЛПС) *A. brasilense* Sp245, представляющему собой линейный D-рамнан со следующей структурой повторяющегося звена  $\rightarrow 2$ )- $\beta$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Rhap-(1 $\rightarrow$ ). Целью настоящей работы явилось изучение роли лектин – углеводного распознавания как биоспецифического взаимодействия при совместном культивировании *G. frondosa* 0917 с *A. brasilense* Sp245 (дикий тип) и его Омегон-Км мутантов, дефектных по структуре ЛПС. Штамм *A. brasilense* Sp245 и его мутанты КМ018 и КМ252, взятые в эксперимент, различаются «набором» мембранных ЛПС – ЛПС1 и ЛПС2, в составе которых ОПС1 и ОПС2, соответственно, обуславливают различия этих штаммов по антигенным свойствам (О-антигены). В состав наружных мембран клеток дикого штамма *A. brasilense* Sp245 входят ЛПС, имеющие оба ОПС; в клетках мутантов КМ018 экспонирован ЛПС1, в клетках КМ252 – ЛПС2. Мутантные штаммы ранее получены с использованием Омегон-Км мутагенеза в лаборатории генетики микроорганизмов ИБФРМ РАН. Чистые бактериальные культуры выращивали на жидкой малатно-солевой среде при 30°C 1сут. Мицелий гриба во время экспериментов культивировали на чашках Петри (90мм) с агаризованной (18 г/л) средой на основе пивного сусла 4° по Баллингу. Суспензии бактериальных культур (1мл) добавляли к 3-5-суточной культуре гриба на чашке Петри, равномерно распределяя суспензию шпателем по незанятой мицелием поверхности агаризованного сусла. С целью блокирования углеводсвязывающей области лектина, присутствующего на поверхности мицелия, растущие гифы до внесения бактериальных культур подвергали предобработке (30 мин при комнатной tе) раствором очищенного препарата ОПС1 в концентрации 10 мкг/мл; для этого навеску лиофильно высушенного препарата ОПС1 разводили до нужной концентрации стерильным буфером и обрабатывали кончики гиф мицелия (1мл раствора), радиально растущего на чашке Петри с агаризованной средой. Совместные культуры выращивали в термостате при 26°C.

Пример и описание совместных колоний осуществляли на 10 сут. Количественной характеристикой полученных результатов являлся ростовой коэффициент (РК) мицелия *G. frondosa* 0917 в совместных культурах, ко-

торый был нами модифицирован в силу объективных причин, возникших в ходе экспериментов, и отличался от предложенного ранее добавлением еще одного параметра  $j$ , характеризующего степень однородности мицелия. Таким образом, вычисление ростового коэффициента, обозначенного как  $PK_j$  проводили по окончательной формуле:

$$PK_j = dhgj/t,$$

где  $d$  – диаметр колонии, мм;  $h$  – высота колонии, мм;  $g$  – плотность колонии, балл;  $j$  – степень однородности мицелия;  $t$  – возраст колонии, сут. Величина  $g$  оценивается по трехбалльной шкале (1 – редкая, 2 – средняя, 3 – плотная); величина  $j$  – по четырехбалльной шкале (1 – крайне неоднородная, с островками как плотного (прижатого), так и воздушного мицелия; 2 – неоднородная, морфологически отличный мицелий только в определенной зоне; 3 – присутствие отличающегося по морфологии мицелия незначительное; 4 – однородная);  $t$  всегда равно 10 (сут).

Как показали результаты исследований, присутствие азоспирилл в кокультуре сказывалось на росте мицелия, в целом, положительно.  $PK_j$  чистой (контрольной) культуры гриба определен как  $131.48 \pm 3.85$ . Из табличных данных характеристики морфолого-культуральных признаков совместных культур, полученных совмещением чистых культур без предобработок, видно, что дикий тип азоспирилл штамм Sp245 оказывает ростостимулирующий эффект на мицелий *G. frondosa* 0917. Мутантный штамм азоспирилл KM018 практически нейтрален, а штамм KM252 ингибирует рост мицелия, особенно в зоне первичного контакта бактериальной и грибной культур, которая представлена широким кольцом редкого воздушного мицелия. При совмещении культур после предобработки гиф гриба раствором ОПС1, гаптенного лектину поверхности мицелия, значения  $PK_j$  существенно уменьшились; причиной этого явилось уменьшение скорости роста мицелия и неоднородность мицелия, выраженная четкой зоной антагонизма в месте первичного контакта культур. Для кокультуры с диким типом бактерий Sp245 такая зона представлена достаточно узким (3-5 мм) кольцом плотного прижатого мицелия, с азоспириллами мутантного штамма KM018 такое кольцо более широкое и размытое (5-7 мм), а для кокультуры с мутантами KM252 зона антагонизма представлена широким кольцом (10-12 мм) с нечетким контуром, состоящим из перемежающихся полос и островков то плотного, то редкого мицелия.

Ростовые характеристики колоний *G. frondosa* 0917  
при совместном культивировании со штаммами *A. brasiliense*.

Штамм бактерий	совмещение культур без предобработок		совмещение культур после предобработки гиф ОПС1	
	$d$ , мм	$PK_j$	$d$ , мм	$PK_j$
Sp245	$79.86 \pm 2.03$	$143.74 \pm 3.81$	$73.45 \pm 1.85$	$88.14 \pm 2.44$
KM018	$76.62 \pm 1.88$	$133.92 \pm 3.76$	$72.57 \pm 1.71$	$87.08 \pm 2.06$
KM252	$74.34 \pm 1.74$	$89.21 \pm 2.27$	$71.79 \pm 1.90$	$28.72 \pm 0.89$

Неупорядоченная агрегация гиф по типу «барража» (плотный, валикообразный, прижатый к поверхности среды мицелий в зоне первичного контакта) свидетельствует о напряженных адаптационных моментах в процессе распознавания «чужака». Поскольку условия экспериментов отличались только кратковременной предобработкой кончиков гиф ОПС1, возможным объяснением наблюдаемых явлений предположили блокировку углеводсвязывающей области лектина гаптенным ему ОПС1, что, в конечном итоге, привело к временному затруднению в контакте гиф с бактериальными клетками. Но в процессе дальнейшего роста выработка лектина растущими гифами привела к распознаванию и более скорой «идентификации» штаммов Sp245 и КМ018 по сравнению со штаммом КМ252, у которого зона противостояния гораздо больше и ярче выражена, чем в случае с остальными.

Таким образом, на основании полученных результатов можно говорить о положительном влиянии бактерий дикого типа *A. brasilense* Sp245 на развитие мицелия *G. frondosa* 0917, что, при условии более конкретных разработок, может быть в дальнейшем использовано в биотехнологических целях. Установленный факт, что бактериальные штаммы Sp245 и КМ018, в клеточной стенке которых экспонирован ЛПС1 с гаптенным лектину гриба ОПС1, распознаются грибом с наименьшим проявлением антагонизма свидетельствует об участии биоспецифических лектин – углеводов взаимодействий в первичном контакте мицелия *G. frondosa* 0917 и бактерий *A. brasilense* в процессе совместного культивирования: очевидно, в данном случае гриб «идентифицирует» клетки азоспирилл как «не представляющие опасности». Лектин в данном случае является, скорее всего, неким аттрактантом для бактерий, обеспечивая распознавательную – защитную функцию для гриба. Учитывая полученные результаты, рекомендацией к практическому применению может служить общий вывод: при подборе культур микроорганизмов с целью создания защищенного мицелия культивируемых грибов следует знать биохимические особенности гриба в становлении первичного контакта, что может проявляться в лектиновой активности грибного мицелия, которая, в свою очередь, будет провоцировать тот или иной биологический ответ контактирующих микроорганизмов.

## РОСТ МИЦЕЛИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ ПОРЯДКА APHYLLOPHORALES НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Цизь А.М., Бисько Н.А.

Национальный аграрный университет Украины  
Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ  
Киев

В последние десятилетия убедительно доказано высокая биологическая ценность макромицетов, как пищевого продукта, который содержит уникальный комплекс питательных и лекарственных веществ. Особенно богаты ими различные виды дереворазрушающих грибов. Важным этапом введения таких видов в промышленную культуру является подбор питательных сред. Изучение культуральных особенностей мицелиальных колоний на различных питательных средах является одним из актуальных заданий современной микологии и грибоводства. Оно дает возможность идентифицировать грибные культуры в вегетативной стадии развития, поддерживать штаммы в должном физиологическом состоянии. Кроме того, такое изучение имеет большое практическое значение. В частности, с помощью полученных данных можно установить зависимость роста гриба от условий выращивания, то есть обнаружить питательные среды, которые обеспечивают быстрое развитие исходных мицелиальных культур.

Исследования ростовых и культурально-морфологических характеристик мицелиальных колоний некоторых видов лекарственных грибов порядка *Aphyllphorales* проводили в отделе микологии Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины согласно методики, описанной в книге «Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре» (Бухало А.С., 1983). Использовали 4 вида из 3 семейств (*Ganodermataceae*, *Schizophyllaceae*, *Polyporaceae*) дереворазрушающих грибов, которые хранятся в Национальной коллекции культур шапочных грибов Института ботаники: *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst – штамм ИБК-354; *Schizophyllum commune* Fr. – штамм ИБК-339; *Fomes fomentarius* (L. ex Fr.) Fr. – штамм ИБК-338; *Coriolus versicolor* (L.) Quel. – штамм ИБК-323. Ростовые и культурально-морфологические признаки изучали на двух питательных средах: агаризованном сусле (СА) и агаризованном глюкозо-пептон-дрожжевом экстракте (ГПДА). Культуры инкубировали в лабораторных условиях при температуре  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Каждые сутки проводили измерение диаметра разрастания колоний, наблюдали за их культурально-морфологическими признаками, плотностью и высотой. На основе полученных данных вычисляли ростовой коэффициент (РК) по формуле:  $PK = \frac{d \cdot h}{q \cdot t}$ , где  $d$  – диаметр колонии, мм;  $h$  – высота колонии, мм;  $q$  – плотность колонии, баллов;  $t$  – возраст колонии, суток.

Анализ показателей ростового коэффициента исследуемых видов на двух питательных средах свидетельствует, что интенсивность роста мицелиальных колоний *Ganoderma lucidum* – штамм ИБК-354, *Fomes fomentarius* – штамм ИБК-338, *Coriolus versicolor* – штамм ИБК-323 более высокая при выращивании на питательной среде СА, и только в *Schizophyllum commune* – штамм ИБК-339 на среде ГПДА наблюдали больший ростовой коэффициент (табл. 1). При этом в *Ganoderma lucidum* РК на СА превышал РК на ГПДА на 109,9%, в *Fomes fomentarius* – на 98,2%, в *Coriolus versicolor* – на 10,8%, а в *Schizophyllum commune* – уступал на 22,6%.

Таблица 1. Ростовой коэффициент мицелиальных колоний грибов порядка *Aphyllophorales* в зависимости от среды культивирования

Вид, штамм	ГПДА				СА			
	Сутки культивирования			Среднее	Сутки культивирования			Среднее
	1	3	5		1	3	5	
<i>Ganoderma lucidum</i> – штамм ИБК-354	26,4	55,3	47,9	43,2	55,2	119,0	97,8	90,7
<i>Schizophyllum commune</i> – штамм ИБК-339	100,8	181,5	146,5	142,9	108,0	126,4	97,3	110,6
<i>Fomes fomentarius</i> – штамм ИБК-338	33,6	65,0	50,1	49,6	71,4	125,4	98,0	98,3
<i>Coriolus versicolor</i> – штамм ИБК-323	70,2	136,6	98,3	101,7	89,4	146,8	102,0	112,7
Среднее	57,8	109,6	85,7		81,0	129,4	98,8	

Согласно классификации А.С. Бухало, по скорости роста мицелиальные колонии базидиальных грибов делят на три группы: I – быстрорастущие (РК>100), II – растущие со средней скоростью (РК = 50-100), III – медленно растущие (РК<50). Данные таблицы свидетельствуют, что на среде СА со средней скоростью росли *Ganoderma lucidum* (РК = 90,7), *Fomes fomentarius* (РК = 98,3). *Schizophyllum commune* имел ростовой коэффициент 110,6, а *Coriolus versicolor* – 112,7, поэтому они относятся к I группе. На среде ГПДА наибольший средний ростовой коэффициент имели мицелиальные колонии *Schizophyllum commune* (РК = 142,9) и *Coriolus versicolor* (РК = 101,7), а медленно росли *Ganoderma lucidum* (РК = 43,2) и *Fomes fomentarius* (РК = 49,6).

Следует обратить внимание на значение ростового коэффициента на третьи сутки культивирования. Для всех исследуемых видов на обеих средах в этот период РК был наивысшим. При этом в среднем по видам на ГПДА он составлял 109,6, превышая РК на первые сутки на 51,8 и на пятые сутки

– на 23,9. На СА в среднем по видам он составлял 129,4, превышая РК на первые сутки на 48,4 и на пятые сутки – на 30,6.

Анализируя культурально-морфологические особенности мицелиальных колоний исследуемых видов, отметим, что в *Ganoderma lucidum* на среде СА наблюдался ватно-войлочный белый мицелий, а на среде ГПДА – белый ватно-войлочный в месте инокулюма, который плавно переходил в паутинистый. На обеих средах отмечали концентрические круги, примордии, отсутствие зернистости. *Schizophyllum commune* как на среде СА, так и на ГПДА имел неокрашенный реверзум, на белом мицелии наблюдались концентрические круги, на которых находились примордии. На ГПДА возле инокулюма и на расстоянии 70 мм от него, а на среде СА – на расстоянии 70 мм от инокулюма образовывались примордии розово-оранжевого цвета. На СА мицелий ватно-войлочный, а на ГПДА – паутинистый. *Fomes fomentarius* на среде СА образовывал ватно-войлочный белый мицелий без концентрических кругов, примордии образовывались возле краев чашки Петри. На среде ГПДА наблюдался паутинистый белый мицелий, примордии возле инокулюма и на расстоянии 30 мм от него (на концентрическом круге). Резервум на обеих средах неокрашенный. *Coriolus versicolor* на СА образовывал белый воздушный мицелий, который ближе к краям чашки Петри плавно переходил в войлочный. На ГПДА, напротив, возле инокулюма наблюдался войлочный белый мицелий, который ближе к краям чашки Петри плавно переходил в воздушный. Резервум на обеих средах неокрашенный, примордии отсутствуют. Наблюдались едва заметные концентрические круги на расстоянии 25 мм от инокулюма.

Таким образом, в результате проведенных опытов установлено, что исследуемые виды грибов порядка *Aphylophorales* по-разному росли на ГПДА и СА. Более интенсивное накопление мицелия в *Ganoderma lucidum*, *Fomes fomentarius* и *Coriolus versicolor* проходило на питательной среде СА, а в *Schizophyllum commune* – на ГПДА. Установлено, что максимальное значение ростового коэффициента всех видов на всех средах приходилось на третьи сутки культивирования. Полное зарастание питательных сред чашек Петри происходило за шесть суток.

## ПЛОДОНОШЕНИЕ ШТАММОВ СЪЕДОБНОГО, МЕДИЦИНСКОГО ГРИБА *FLAMMULINA VELUTIPES* (FR.) P. KARST НА РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТРАТАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

*Шелюк А.И.*

*Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины  
Киев*

Внимание многих ученых направлено на изучение биологии и культивирование высших базидиомицетов в связи с возможностью их использования в переработке растительных отходов и получения в конечном результате качественного белка, витаминов и физиологически активных веществ (Fan Leifa, 2000; Wasser S. P., 2002). Дереворазрушающий гриб *Flammulina velutipes* (опенок зимний) является в этом плане одним из наиболее перспективных объектов для изучения и дальнейшего его использования (Гаврилова Л. П., 1982; Федоров Н. И.; Неустроева Л. М., 1983; Suzana M. Badalyan., 2005). Исследования скорости роста вегетативного мицелия и плодоношения на широком спектре субстратов являются необходимыми для определения не только фенотипических отличий между штаммами *F. velutipes*, но и для выявления новых высокопродуктивных штаммов и селективных субстратов, что является актуальным вопросом на сегодня в связи с отсутствием промышленного культивирования опенка зимнего в Украине.

Нами были исследованы отличия в вегетативном росте и образовании плодовых 14-ти штаммов *F. velutipes* на комплексных растительных средах (опилки ясеня, пшеничная солома, шелуха подсолнечника, костра льна с пшеничными отрубями в соотношении 3:1 по массе), которые являются отходами сельского и лесного хозяйств Украины, что есть необходимым условием для отбора высокопродуктивных штаммов.

В результате проведенных исследований нам удалось определить фенотипические отличия между штаммами *F. velutipes*, которые проявлялись в способности к колонизации того или другого субстрата, образовании плодовых тел, общего урожая. Неспособность отдельных штаммов образовывать плодовые тела ни на одном из субстратов требует более детального изучения условий перехода этих штаммов к стадии телеоморфы (штаммы 72, 112, 245, 318, 1668, 1669). Однако не исключено, что эти штаммы являются физиологически «неполноценными» (Псурцева Н. В., 1988). Другие штаммы, образуя плодовые тела на субстрате с опилками (1860, 1878, 1879, 1880, 1881, 1883, 1884, 1885), не плодоносили на субстрате с соломой (штаммы 1878, 1885), шелухой подсолнечника (штаммы 1879, 1883) и костре льна (штаммы 1878, 1879, 1880, 1885). Несовместимость некоторых штаммов с субстратом, что проявляется в неспособности мицелия переходить на питательную среду (на соломе штаммы 72, 112, 245, 318, 1668, 1669, 1865, на

шелухе подсолнечника 245, 318, 1878, 1880, 1885, на костре льна 72, 112, 245, 318, 1668, 1669, 1878, 1879, 1880, 1885) может говорить о некоторых различия в ферментативном комплексе между штаммами (Даниляк Н. И., Семичаевский В. Д. и др., 1989). Наиболее универсальным субстратом, на котором плодоношение наблюдалось у всех 8-ми штаммов из 14, был субстрат с опилками ясеня и пшеничными отрубями. Здесь наибольший урожай был зафиксирован у штамма 1879 – 25,1 % от сырой массы субстрата. Максимальный урожай плодовых тел был выявлен при плодоношении штамма 1880 на субстрате с соломой 40 %. Субстраты, в основу которых входила шелуха подсолнечника, и костра льна были неэффективными для роста и плодоношения штаммов опенка зимнего.

Таким образом, полученные в ходе опытов результаты исследований показывают не только фенотипические отличия между штаммами *F. velutipes*, но и дали возможность отобрать наиболее перспективные штаммы и питательные субстраты для их плодоношения с числа отходов сельского и лесного хозяйств Украины.

## **ГРИБЫ РОДА ВЕШЕНКА – ИНГРЕДИЕНТЫ НОВЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

*Щерба В.В.<sup>1</sup>, Паромчик И.И.<sup>2</sup>, Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Осадчая О.В.<sup>1</sup>,  
Филимонова Т.В.<sup>1</sup>, Королева Н.Ю.<sup>2</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси*

*2 Центральный ботанический сад НАН Беларуси*

*Минск*

*Беларусь*

В последние десятилетия ввиду роста числа хронических заболеваний и установления их причинной связи с несбалансированным питанием к пищевым продуктам стали относиться как к эффективному средству профилактики. Особую актуальность приобретают «функциональные пищевые продукты», которые предназначены для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами населения с целью снижения риска развития заболеваний. К физиологически функциональным пищевым ингредиентам относятся: пищевые волокна, витамины, минеральные вещества, полиненасыщенные жирные кислоты, белки и их структурные компоненты, антиоксиданты и др., содержащиеся отдельно или в составе биологически активных добавок. Источником функциональных соединений в полной мере могут стать плодовые тела вешенки обыкновенной, которая обладает не только высокой питательной ценностью, но и определенными лечебными свойствами.

Целью наших исследований явилась разработка новых физиологически функциональных пищевых продуктов на основе картофеля с использованием грибов вешенки обыкновенной и пряно-ароматических растений.

Исследование биохимического состава сушеных грибов вешенки показало, что грибы содержат 29,9% общего белка, 52,9% общих углеводов. Зольные элементы составляют 3,8%, а фенольные соединения – 1320 мг%. Энергетическая ценность сушеных грибов составила 359 ккал/100г. Лимитирующей биологическую ценность белка оказалась аминокислота лейцин. Вместе с тем, белок по сумме незаменимых аминокислот соответствует норме ФАО (36,03 и 36,00). Содержание общих липидов в сушеных грибах – 3,1%, в составе их преобладающими оказались олеиновая С18:1 – 12,3% и линолевая С18:2 – 64,3% жирные кислоты, а степень ненасыщенности липидов составила 3,7. Сумма насыщенных кислот равна 21,3% с преобладанием пальмитиновой С16:0 кислоты.

Биологическую активность многих грибов связывают с наличием в них углеводов, в т. ч. гликанов, гетерогликанов, глюкозаминогликанов. В грибной клетке они представлены свободными и связанными сахарами, количество которых достигает 60% и более от сухой биомассы. Углеводы цитозоля клеток грибов по современным представлениям выполняют множество функций: резервную, осморегулирующую, регуляторную и протекторную, основанную на способности замещать воду в липидном бислое мембран.

Фракционный состав углеводов сушеных грибов вешенки обыкновенной приведен в таблице 1. Как следует из данных таблицы, основная часть углеводов грибов представлена хитин-глюкановым комплексом (31,3%), в состав которого входят кислотная, щелочные фракции и хитин. На долю свободных углеводов водной фракции и водорастворимого полисахарида приходится 21,6%, а общее содержание углеводов составило 52,9%.

Таблица 1. Фракционный состав углеводов сушеных грибов вешенки обыкновенной

	Фракции, % от сухой массы						
	Водная	Полисахарид	Кислотная	Щелочная I	Щелочная II	Хитин	Всего
Грибы	16,2	5,4	9,8	8,6	9,8	3,1	52,9

Исследование углеводного состава водорастворимой фракции плодовых тел позволило установить в ее составе полиолы арабит и манит, причем преобладающим оказался манит (91,2%), а содержание глюкозы и трегалозы составило 10,4%.

Кроме водорастворимых низкомолекулярных сахаров в цитозоле клетки содержится водорастворимый полисахарид в количестве 5,4%. Газохроматографический анализ гидролизатов полисахаридов позволил установить наличие в них глюкозы и галактозы, причем глюкоза составляла 96,2%,

галактоза 3,8%. Наряду со свободными углеводами в состав мицелия входят структурные компоненты клеточной стенки – это хитинглюкановый комплекс. В результате его фракционирования получены кислото-, две щелочерастворимых фракции и хитин. Количество кислоторастворимой фракции составило 9,8%, в состав ее входят глюкоза и галактоза. Первая щелочная фракция состояла из глюкозы и галактозы, тогда как вторая – только из глюкозы.

Исследование биохимического состава картофелегрибного продукта показало, что в его составе белок составляет 19,0%, липиды – 1,5%, общие углеводы – 68,0%. Энергетическая ценность продукта близка к таковой сушеных грибов вешенки и составляет 361,5 ккал/100г продукта. В составе продукта установлено присутствие фенольных веществ в количестве 302,0 мг% (табл. 2).

Таблица 2. Биохимический состав картофелегрибного продукта

	Показатель, %					
	Белок	Липиды	Зольные элементы	Общие углеводы	Фенольные соединения, мг%	Энергетическая ценность, ккал/100г
картофелегрибной продукт	19,0	1,5	1,8	68,0	302,0	361,5

Среди насыщенных жирных кислот, в продукте присутствуют только С16:0 и С18:0 сумма которых составляет 34,0%. Полиненасыщенные жирные кислоты – олеиновая (С18:1), линолевая (С18:2) и линоленовая (С18:3) в составе липидов составляют 66,0%. Коэффициент ненасыщенности липидов равен 1,2.

Анализируя соотношения биологически активных соединений в картофелегрибном продукте и образце сушеных грибов необходимо отметить, что исходный компонент (сушеные грибы) превосходят конечный продукт по содержанию белка, липидов и фенольных соединений и значительно уступает по содержанию углеводов. Вместе с тем, наличие полиненасыщенной жирной кислоты (С18:3) в конечном продукте характеризует его более физиологически активным, чем исходные продукты.

Таким образом, введение грибов вешенки в состав картофельных продуктов обогащает их более чем в 2 раза белком, липидами с физиологически функциональными полиеновыми жирными кислотами. Это приводит не только к улучшению питательной ценности и вкусовых качеств конечных продуктов, но и увеличению их антиоксидантных свойств.

## Глава 7

---

# ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИМИКОТИКИ И МЕТОДЫ С ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА ПРОЯВЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS* ИБ-54 К ГРИБАМ – ВОЗБУДИТЕЛЯМ ДЕРМАТОМИКОЗОВ

Актуганов Г.Э.<sup>1</sup>, Галимзянова Н.Ф.<sup>1</sup>,  
Мелентьев А.И.<sup>1</sup>, Лукманова К.А.<sup>2</sup>, Гизатуллина С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Уфимского научного центра РАН

<sup>2</sup> Филиал «Иммунопрепарат» ФГУП «НПО Микроген»

Уфа

Разработка и внедрение в клиническую практику новых эффективных противогрибковых препаратов для профилактики и лечения дерматомикозов является актуальной задачей современной дерматологии. В настоящее время в нашей стране широко используются разнообразные импортные фармацевтические средства на основе антибиотиков и синтетических фунгицидов, которые являются достаточно эффективными, но требуют длительного применения при лечении системных дерматомикозов. Зачастую это приводит к различного рода побочным эффектам в ходе лечения, поскольку большинство современных препаратов при определенных концентрациях обладают токсическим действием. Одним из решений этой проблемы должно стать расширение спектра безопасных для человека антимикотических препаратов, что позволит существенно сократить дозу применения традиционных лекарственных средств в комплексной терапии дерматомикозов.

Исследования последних лет в области биотехнологии и медицины показывают, что в качестве альтернативных, либо дополнительных, средств внутреннего и наружного применения для лечения дерматомикозов могут серьезно рассматриваться препараты на основе бактериальных культур. Одним из наиболее технологичных и безопасных объектов для разработки подобных препаратов являются различные штаммы аэробных эндоспорообразующих бактерий рода *Bacillus* и близких таксономических групп. Помимо известных антагонистических свойств к различным патогенным микроорганизмам, бациллы обладают способностью синтезировать широкий спектр внеклеточных ферментов и биологически активных веществ, что может обеспечивать комплексный лечебный эффект по сравнению с традиционными антимикотическими средствами.

Ранее нами была продемонстрирована способность ряда штаммов *Bacillus subtilis* из коллекции Института биологии УНЦ РАН подавлять развитие *in vitro* грибов – представителей родов *Microsporium* и *Trichophyton*, являющихся основными возбудителями дерматофитий (Мелентьев А.И. и др., 2004). Одним из наиболее активных штаммов из этой группы являлся *B. subtilis* ИБ-54, который был отобран для дальнейших исследований с

целью разработки новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения дерматомикозов. Испытания штамма на белых мышах показали отсутствие у него токсичности, токсигенности и вирулентности. Препарат безвреден при пероральном и внутримышечном введении.

Первым этапом в разработке технологии получения лекарственной формы на основе *B. subtilis* ИБ-54 являлась оптимизация способа получения биомассы и экзометаболитов данного штамма в лабораторных условиях и определение минимальной эффективной концентрации препарата. С целью отработки способа получения биомассы штамма, оценивали влияние источника углерода на рост и антигрибную активность *B. subtilis* ИБ-54. Штамм выращивали в условиях периодической культуры (170 об/мин, 36,5°C) в течение трех суток на минеральной среде, содержащей картофельный крахмал, глицерин или D-глюкозу (0,5% масс.). Наиболее высокая плотность клеток в культуральной жидкости (КЖ) *B. subtilis* ИБ-54 наблюдалась при его выращивании в среде с глицерином и достигала  $5,2 \pm 0,8 \times 10^8$  КОЕ/мл. Соответствующие цифры при культивировании на крахмале и глюкозе составляли  $1,67 \pm 0,13 \times 10^8$  КОЕ/мл и  $3 \pm 0,5 \times 10^7$  КОЕ/мл.

Оценку минимальной эффективной концентрации полученных препаратов проводили *in vitro* по отношению к клиническим штаммам *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* и *T. mentagrophytes var. gypseum* методом лунок. Кроме самой КЖ, оценивали также ее активность при разведениях 10-5 и 10-8. Результаты экспериментов приведены в таблице.

Таблица. Подавление развития грибов-дерматофитов и минимальная ингибирующая концентрация препаратов КЖ *B. subtilis* ИБ-54, полученных его выращиванием в питательных средах с различными источниками углерода\*

Основной источник углерода, 0,5% масс.	Диаметр подавления роста тестируемых грибов, мм								
	<i>Trichophyton rubrum</i>			<i>Trichophyton mentagrophytes var. gypseum</i>			<i>Microsporum canis</i>		
	КЖ	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-8</sup>	КЖ	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-8</sup>	КЖ	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-8</sup>
Крахмал	32±2	31±2	НА	–	40±5	НА	39±4	32±2	НА
Глицерин	31±2	31±2	28±1	46±4	43±5	42±3	37±5	31±2	29±2
Глюкоза	31±2	28±2	НА	52±2	40±4	НА	33±4	31±1	НА

\*Величины среднего значения и стандартного отклонения приведены в виде целых (округленных) чисел (мм);

КЖ – неразбавленная культуральная жидкость;

10-5-10-8 – степень разведения КЖ;

НА – нет активности; (–) – отсутствие роста гриба.

Полученные результаты показали, что наибольшую чувствительность к *B. subtilis* ИБ-54 проявлял гриб *T. mentagrophytes var. gypseum*, что ха-

рактизовалось задержкой развития на стадии формирования ростковых трубок и образованием сферопластов, тогда как задержка развития двух других грибов происходила на стадии ветвления. У всех тест-грибов при воздействии метаболитов и живой культуры *B. subtilis* ИБ-54 отмечалось апикальное и интеркалярное формирование сферопластов и отсутствие спорообразования. Сравнительная оценка антигрибной активности препаратов штамма, выращенного на различных источниках углерода, не выявила достоверных различий между ними. В сильно разбавленных препаратах штамма ( $10^{-5}$  и  $10^{-8}$ ), роль его внеклеточных метаболитов в антигрибном эффекте сводилась к минимуму, и первостепенное значение приобретала исходная концентрация клеток в культуральной жидкости. Поскольку при разведении в  $10^5$  раз активность всех препаратов снижалась несущественно, полученный результат свидетельствует о ведущей роли живых клеток в суммарном антигрибном эффекте *B. subtilis* ИБ-54. Критической точкой для активности препаратов штамма, полученных выращиванием в средах с крахмалом или глюкозой, являлось разведение в  $10^5$  раз. Вместе с тем, при выращивании на среде с 0,5% глицерина, штамм *B. subtilis* ИБ-54, из-за своего более высокого титра, сохранял способность подавлять рост дерматофитов *in vitro* и при разведении в  $10^8$  раз.

Таким образом, штамм *B. subtilis* ИБ-54, вне зависимости от состава среды культивирования, способен эффективно подавлять рост и развитие грибов-дерматофитов (*Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* и *T. mentagrophytes var. gypsum*) *in vitro*, сохраняет эту способность при высокой степени разведения исходного препарата

( $10^{-5}$ - $10^{-8}$ ) и является весьма перспективным для разработки новых форм лекарственных препаратов для профилактики и лечения дерматомикозов различной этиологии.

## АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОРРИГИРУЮЩИХ ОРТЕЗОВ СТОП С ФУНГИЦИДНЫМ КОМПОНЕНТОМ

*Андреев В.А., Сухарев А.В., Патрушев А.В.,  
Рябцев Д.А., Луговец О.Ю., Иванов А.М.  
Россия, Санкт-Петербург, Военно-медицинская  
академия им. С.М. Кирова*

Микозы стоп – одна из наиболее частых патологий вызываемых микроскопическими грибами. Особую актуальность эти поражения приобретают у лиц молодого возраста в организованных коллективах. В этих условиях экономически целесообразным является реализация комплексного подхода к профилактике данной группы заболеваний на ранних стадиях.

Нами проведены исследования по оценке профилактической эффективности длительного ношения ортезов (специальных корригирующих самоформирующихся ортопедических стелек), обладающих антимикотическим и подсушивающим действием для профилактики микозов стоп. Ортезы изготовлены из инертного материала пенополисиликона, который под действием веса и температуры принимает форму стопы. Кроме того, в его структуру введен антимикотический препарат – тербинафин. Обследованы 26 лиц молодого возраста. Выделены две группы: группа, использовавшая корригирующие ортезы стоп с тербинафином (n=13) и группа, носившая обувь без ортезов (n=13). Длительность исследования составила 2 месяца. Соскобы чешуек кожи стоп, отобранные в динамике наблюдения, подвергали микроскопическим и культуральным исследованиям. Посевы проводили одновременно в несколько пробирок со средой Сабуро, в одну из которых добавляли циклогексимид для задержки роста плесневых грибов и увеличения вероятности выделения грибов-дерматофитов. Выросшие культуры идентифицировали по морфологическим признакам роста и дифференциально-диагностическим элементам при микроскопии.

Профилактическая эффективность оценивалась по динамике числа выделяемых дерматофитов и плесневых грибов. До применения ортезов грибы-дерматофиты, представленные преимущественно *Trichophyton rubrum*, были выявлены у 38,6% обследованных из первой группы и у 46,2% лиц второй группы. После месячного использования специальных стелек число таких наблюдаемых в первой группе снизилось до 15,4%. В 2 раза также снизилось число лиц, у которых при обследованиях выявлялись плесневые грибы. Во второй группе частота выделения дерматофитов в течение 2-х месяцев имела тенденцию к увеличению ( $0,05 < p < 0,10$ ).

Таким образом, исследования показали достоверную динамику снижения числа выделяемых дерматофитов и плесневых грибов в процессе ношения ортезов, что позволяет рекомендовать их использование для профилактики микозов стоп.

## ЛАМИЗИЛ В ТЕРАПИИ ЗООНОЗНОГО КОЖНОГО ЛЕЙШМАНИОЗА

*Арифов С.С., Исмаилов А.И., Иноятов А.Ш.*  
НИИ Дерматологии и Венерологии  
Узбекистан

Лейшманиоз кожи – эндемическое инфекционное заболевание, возбудителем которого является *Leishmania tropica*, относящееся к семье *Troponosamidae*. Основным источником инфекции считаются грызуны, реже больные люди, переносчиками – москиты.

Заболевание клинически проявляется образованием болезненного бугорка, длительно незаживающих язв на месте укуса зараженного москита. Процесс заканчивается образованием рубца.

Лечение кожного лейшманиоза должно быть комплексным, специфическим и проводиться с применением как местных, так и общих средств. Цель лечения уничтожить возбудителя заболевания и ускорить заживление ран.

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучить клиническую и паразитологическую эффективность Ламизила (Novartis Pharma AG) при лечении зоонозного кожного лейшманиоза. Под наблюдением находились 15 больных (12 мужчин и 3 женщины) с лейшманиозом кожи в возрасте от 18 до 57 лет. Давность заболевания составила от 6 до 12 недель. У всех больных диагноз установлен клинически и лабораторно, обнаружением возбудителя заболевания. Патологический процесс у всех больных находился в стадии изъязвления, имел лимфаденит и лимфангит. Количество очагов поражения у двух больных варьировал от 1 до 5 и располагался на конечностях у 8, на лице у 3, на лице и конечностях у 2 пациентов.

Для этиотропного лечения Ламизил назначали внутрь по 250-500 мг один раз в день в течение 28 дней. В качестве местной терапии использовали противовоспалительные и антибактериальные средства.

Через 2 недели после лечения у 11 человек отмечалось значительное улучшение патологического процесса, которое характеризовалось очищением язвы от гнойно-некротических масс, появлением грануляционной ткани и эпителизированием. К концу 4 недели терапии у всех больных наблюдалось клиническое выздоровление и полная элиминация возбудителя. На месте язв образовались нежные рубцы розово-красного цвета. Повторный осмотр через 3 месяца показал, что пролеченные больные не имели рецидива заболевания.

В процессе терапии побочного действия Ламизила не наблюдалось.

Простота и удобство применения, высокая эффективность по отношению к возбудителю лейшманиоза позволяет рекомендовать применение Ламизила для лечения больных зоонозным лейшманиозом не только в стационарах, но и в амбулаторных условиях с обязательным соблюдением необходимых санитарно-эпидемиологических норм

## **ГЕНОФОНД ПРИРОДНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ИСТОЧНИК ФУНГИЦИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ**

*Воейкова Т.А., Азизбекян Р.Р.*

*Государственный научно-исследовательский  
институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов  
Москва*

Генофонд природных спорообразующих микроорганизмов является неисчерпаемым источником новых фунгицидных антибиотиков, которые

могут быть использованы в медицине и ветеринарии. Экономически ценные микроорганизмы служат основой для создания рентабельного производства лекарственных препаратов для человека и животных. На основе природных фунгицидов можно создавать полусинтетические производные с широким спектром действия и более высокой активностью. В медицине в настоящее время отмечается тенденция к увеличению числа заболеваний человека, вызываемых различными грибковыми микроорганизмами. В процессе лечения микозов возникают устойчивые формы микроорганизмов к длительно применяемым лекарственным препаратам. Следовательно, поиск и исследование новых антибиотиков микробного происхождения является актуальной задачей современной биологии.

Основной задачей настоящей работы был поиск стрептомицетов и бацилл, синтезирующих биологические вещества, активные против микроскопических грибов. С этой целью были проанализированы почвы лесных, луговых агроэкосистем и городских экосистем в отношении присутствия в микробном комплексе антибиотически активных штаммов. Создана коллекция почвенных стрептомицетов (1050 изолятов), выделенных из 86 образцов почв разных типов. Оценка антибиотической активности изолятов показала, что 22% от общего числа проверенных вариантов проявляли биоцидную активность. Выявлены штаммы, эффективно подавляющие рост грибов, вызывающих заболевания человека, ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий. Наибольшей фунгицидной активностью обладали восемь штаммов стрептомицетов, при этом у трех штаммов обнаружена множественная фунгицидная активность против грибов, возбудителей микозов человека. Наиболее подробно был исследован штамм *Streptomyces* sp., в отношении которого показано, что к действию нового фунгицидного комплекса, синтезируемого этим штаммом чувствительны 12 видов возбудителей грибковых заболеваний человека (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium purpurogenum*, *Alternaria alternata*, *Trichoderma viridae*, *Rhizopus archizus*, *Onychocola* sp., *Aspergillus candidus*, *Beauveria* sp., *Aspergillus flavus*, *Exophiala* sp.), 9 видов бактериальных штаммов, а также 9 видов фитопатогенных грибов. Штамм обладает высоким уровнем фунгицидной активности. В настоящее время проводится физико-химическое изучение антибиотических комплексов, синтезируемых наиболее перспективными штаммами. Показано, что антибиотический комплекс состоит из четырех различных фунгицидных компонентов.

Бациллы так же являются потенциальными продуцентами антибиотических факторов. Из различных климато-географических зон мира из различных образцов (почва, насекомые, листья, вода) выделены около 2000 изолятов, отнесенных по морфологии клеток и спор, а также образуемых ими колоний к различным группам. Представители этих групп были испытаны на микроскопических грибах медицинского значения (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*) и фитопатогенных грибах. Показано, что штаммы, активные против фитопатогенных грибов, ингибируют также развитие грибов

медицинского значения. Изучено влияние условий ферментации бацилл (среда культивирования, температура) на антибиотическую активность. Антагонистический фактор (ы), продуцируемый разными штаммами, может секретироваться, либо может быть связан с клеткой.

Результаты работы показывают перспективность поиска фунгицидов среди метаболитов микробного происхождения.

## **ИНГИБИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ 4-(АДАМАНТИЛ –1)- 1-(1-АМИНОБУТИЛ) БЕНЗОЛА ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖЕПОДОБНЫМ ГРИБАМ**

**Врынчану Н.А.**

*Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины  
Украина*

В настоящее время в клинической практике для профилактики и лечения грибковых поражений используется значительное количество антифунгальных препаратов. Но даже при своевременном их назначении в адекватных дозах далеко не всегда регистрируется положительный эффект. Заболеваемость микозами не только не уменьшается, но даже увеличивается. Так, если в 1980 г в США численность летальных случаев при инвазивных микозах составляла 1557, то в 1997г.она возросла более чем в 4 раза – 6534 случая [V. VcNeil, S. Nash, 2001]. Среди возбудителей микозов значительное место принадлежит грибам рода *Candida*. Несмотря на лидирующую роль *C. albicans*, в последние годы увеличивается удельный вес *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* и других грибов этого рода [*C.Viscoli*, 1999]. Летальность при инвазивном микозе может составлять до 85 % [S. Lin, 2001]. Одна из причин недостаточной эффективности антифунгальных средств – появление резистентных штаммов микроорганизмов. Так, при изучении чувствительности к антифунгальным препаратам *C. albicans*, выделенных от больных острой диареей было установлено, что в 38,2 % случаев возбудитель был резистентным к действию клотримазола, в 44, 7 % – к амфотерицина В и нистатина, 40, 8 % – к действию дифлюкана [Норбоев Н.М., Ибадова Г.А., 2006].

Недостаточная эффективность препаратов способствует распространению устойчивых форм возбудителей и росту заболеваемости. Однако, не смотря на актуальность этой проблемы, в последнее время количество новых средств антимикробной направленности, внедренных в медицинскую практику, уменьшается. Так, в 1998 – 2002 г.г. в сравнении с 1983 – 1987 г.г. разработка и внедрение в медицинскую практику новых препаратов этой группы сократилось на 56 %. В США FDA одобрило к медицинскому применению в 1983 – 1987 г.г. – 16 препаратов, а в 2002 году в этой стране не было зарегистрировано ни одного оригинального антимикробного средства.

Одним из перспективных путей решения проблемы борьбы с микроорганизмами является поиск веществ с антифунгальной активностью среди новых химических классов. В этом плане значительный интерес представляют производные адамантана. Среди этих веществ обнаружены активные ингибиторы роста и размножения как бактерий, так и грибов [Papadaki – Valiraki A. *Et al.*, 1993, Shen C., Bullens D. *et al.*, 2004]. В скрининговых исследованиях среди производных адамантана нами ранее было выявлено соединение – 4-(1-адамантил)-1-(1-аминобутил) бензол (шифр АМ- 166) с широким спектром антимикробной активности. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) соединения по отношению к *S. aureus* ATCC 25923 составляла 2,5 мкг/мл, к *E. coli* ATCC 25922 – 5,0 мкг/мл, *C. albicans* – 0,6 мкг/мл, *C. glabrata* УКМу 2383 – 1,85 мкг/мл, *C. krusei* УКМу 61 – 5,0 мкг/мл, *C. parapsilosis* УКМу 73 – 1,25 мкг/мл, *Trichophyton mentagrophytes var. gypsum* К – 0,8 мкг/мл, *Aspergillus niger* 474 – 1,6 мкг/мл.

Целью нашей работы было изучение ингибирующей активности АМ-166 по отношению к клиническим штаммам грибов.

Антифунгальные свойства соединения были изучены по отношению к 48 штаммам *C. albicans*, выделенных с воспалительных очагов у пациентов Института эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.Б. Громашевского.

Антигрибковые свойства соединения АМ- 166 изучали *in vitro* методом серийных разведений в жидкой питательной среде Сабуро. Плотность инокулята составляла  $10^5$  грибных элементов на 1 мл среды. Антифунгальную активность определяли по показателю МПК через 24 – 48 час инкубации в термостате при 30 – 35° С. Минимальную фунгицидную концентрацию определяли высевом с пробирок с видимым отсутствием роста грибов на плотную среду Сабуро.

Проведенные исследования показали, что соединение АМ- 166 в концентрации 0,4 мкг/мл угнетает рост и размножение 3 штаммов (6,25 %) исследуемых грибов, в концентрации 1,2 мкг/мл – 12 штаммов (25 %), в концентрации 6,25 мкг/мл – 6 штаммов (12,5 %). По 9 штаммов (18,75 %) проявили чувствительность к действию АМ- 166 в дозе 0,8 мкг/мл, 1,6 мкг/мл и 3,12 мкг/мл. Причем, в 76,4 % случаев, МПК совпадала с минимальной фунгицидной концентрацией.

Таким образом, производное адамантана – 4-(1-адамантил)-1-(1-аминобутил) бензол, проявляет активность по отношению к эталонным и клиническим штаммам грибов рода *Candida*.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейших экспериментов для изучения спектра активности соединения АМ- 166, а также механизма его антифунгального действия.

## СИНТЕЗ ПРИРОДНЫХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Гроза Н.В., Голованов А.Б., Иванов И.В.,  
Сергеев Д.В., Толстиков А.Г., Мягкова Г.И.  
Московская государственная академия тонкой  
химической технологии им. М.В. Ломоносова  
Москва*

Воспаление – сложный процесс в живой клетке, приводящий к высвобождению нескольких групп биологически активных медиаторов (простагландинов, лейкотриенов). Непосредственно в очаге воспаления эти соединения проявляют различные эффекты – расслабление сосудов, повышение проницаемости сосудов, перемещение лейкоцитов в пораженную область, в более общем плане – вызывают изменения сосудистого статуса организма, включающие реакции сердечно-сосудистой и почечно-выделительной систем. Лейкотриены представляют семейство метаболитов каскада арахидоновой кислоты, образующихся в результате окисления жирной кислоты 5-липоксигеназой (5-LOX) и дальнейшей ферментативной трансформации окисленного продукта. Лейкотриены играют ключевую роль в патогенезе таких заболеваний как астма, ишемия, псориаз, артрит, язвенный колит, аллергические реакции, а также инфекции различной этиологии.

В целях создания эффективных противовоспалительных препаратов актуальной задачей является поиск селективных ингибиторов 5-липоксигеназного/циклооксигеназного (COX-2) путей трансформации жирных кислот. Синтетические специфические ингибиторы оксигеназ из ряда нестероидных противовоспалительных средств (NSAIDs) оказывают значительное токсическое действие на организм человека при длительном применении. В связи с чем направление поиска лекарственных средств сосредоточилось на скрининге природных соединений, обладающих ингибиторной активностью против индуцибельных оксигеназ. В рамках подобных исследований в природных источниках были обнаружены минорные n-3 (или омега 3) полиненасыщенные кислоты состава C20:4, C19:4, C18:4, у которых отсутствует двойная связь в пятом положении молекулы жирной кислоты. Эти соединения проявляют выраженный противовоспалительный эффект на животных моделях многих заболеваний лейкотриен-зависимого ряда в концентрациях на несколько порядков ниже, чем омега 3 жирные кислоты рыбьего жира, и, возможно, являются специфическими ингибиторами 5-липоксигеназного пути метаболизма жирных кислот. Дигомо-гамма-линоленовая n-6 кислота (отвечающая омега 6 структуре цис-двойных связей молекулы жирной кислоты) также не содержит двойной связи при пятом атоме углерода и обладает противовоспалительным действием при желудочно-кишечных

заболеваниях. Кроме того, природные жирные кислоты можно употреблять в качестве диетарных добавок в дозах, не токсичных для организма, сравнимых с концентрациями жирных кислот, поступающих с пищей.

С целью получения высокочистых стандартов для выделения жирных кислот из природных источников и для проведения биологических исследований веществ данного ряда во вспомогательной терапии микозов был разработан способ препаративного синтеза природных *n*-3 тетраеновых жирных кислот, 8Z,11Z,14Z,17Z-эйкозатетраеновой, 6Z,9Z,12Z,15Z-октадекатетраеновой, и *n*-6 8Z,11Z,14Z-эйкозатриеновой кислоты в рамках одной синтетической схемы. Полиеновые жирные кислоты были синтезированы через образование соответствующих полиацетиленовых предшественников с применением металлоорганических реагентов в реакции кросс-сочетания пропаргильных бромидов с терминальными ацетиленовыми кислотами или спиртами с последующим стереоселективным восстановлением тройных связей с использованием катализатора Линдлара. Разработаны методы выделения конечных полиеновых соединений с применением препаративной ВЭЖХ.

## **ПОВЫШЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭХИНОКАНДИНОВ И РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПОИСКА НОВЫХ АНТИМИКОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВАНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМОВ ГРИБОВ**

*Дигтярь А.В., Позднякова Е.А.*

*Городская клиническая больница г. Москвы № 29 им. Н.Э. Баумана  
Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова Росздрава*

С момента открытия в начале 1970-х гг. пептидного противогрибкового препарата эхинокандина В достигнут значительный успех в поиске представителей данного класса противогрибковых средств. Мы можем говорить об эхинокандинах как о новой группе антимикотических препаратов, причем, наряду с сордаринами, эти две группы являются единственными антимикотическими препаратами грибного происхождения, вошедшими в клиническую практику за последние 15-20 лет. В таблице представлены препараты, допущенные к терапевтическому применению в США, и хотя спектр антимикотического действия данных агентов сравнительно неширок, многочисленные исследования подтверждают их высокую эффективность. Среди других эхинокандинов, выделенных из культуральной среды определенных грибов, можно отметить акулеацин А (продуцент – *Aspergillus aculeatus*), пневмокандин В (*Zalerion arboricola*), энфумафунгин (малоизученные виды *Hormoneta spp.*) и папулакандины (*Papularia sphaerosperma*).

Химическая структура эхинокандинов довольно необычна: они представляют собой N-ацетилированные гексапептиды, ковалентно связанные с алифатическими радикалами – производными жирных кислот, то есть их можно называть липопептидами. Мишенью действия эхинокандинов является мембранный протеин грибов – в-1,3-D-глюкансинтаза, основной фермент, участвующий в синтезе биополимеров (прежде всего в-1,3-D-глюкана) клеточной стенки патогенных грибов. Необходимо отметить, что такие полисахариды, как в-1,3-D-глюкан, являются необходимым компонентом стенок грибной клетки, но отсутствуют на поверхности клеток человека. В клеточной стенке *Candida spp.* и *Aspergillus spp.* присутствуют также и другие полисахариды – в-1,4-D-глюкан, в-1,6-D-глюкан, галактоманнан, хитин, – но большинство данных говорит о том, что в основе антимикотического эффекта эхинокандинов является подавление ферментативного синтеза именно в-1,3-D-глюкана.

Эхинокандины, применяемые в настоящее время, неконкурентно ингибируют в-1,3-D-глюкансинтазу, связываясь с одним из ее доменов. Ген, кодирующий в-1,3-D-глюкансинтазу, хорошо изучен и описан как FKS1. Кроме того, описан ген FKS2, проявляющий 88% гомологии с геном FKS1 на уровне кодируемого белка. Инактивация любого из этих генов является несовместимой с существованием *Saccharomyces cerevisiae*. В то же время определенные мутации в этих генах могут вызывать повышение устойчивости патогенных штаммов *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon beigelii* и других микроорганизмов к эхинокандинам. Поэтому очевидно, что изучение мутаций в этих генах способно повысить эффективность клинического применения эхинокандинов, так как диагностическое определение манифестирующих штаммов у пациентов в будущем даст возможность подобрать оптимальную комбинацию эхинокандинов и других препаратов для минимизирования риска развития лекарственной устойчивости возбудителя.

Так, например, резистентность некоторых штаммов *Candida albicans* к каспофунгину обусловлена мутациями в коротком консервативном регионе гена FKS1. Изучены наиболее заметные случаи повышения лекарственной устойчивости к каспофунгину. Как сообщают *S. Balashov et al.*, при мутациях в кодоне 645 гена FKS1 у *C. albicans*, вызывающих последующую замену серина на пролин, тирозин или фенилаланин, у ряда клинических и лабораторных штаммов отмечается резкое повышение цитотоксических концентрация каспофунгина. При подобных мутациях рост *C. albicans* наблюдается даже при концентрациях каспофунгина > 16 мкг/мл. В этих случаях отмечается повышение ингибиторных концентраций каспофунгина в отношении в-1,3-D-глюкансинтазы более чем в 500 раз.

Данные исследования, наряду с другими работами, показывают важность изучения генома патогенных микроорганизмов для подбора рациональной химиотерапии микозов человека, установления адекватных схем лечения и развития наших представлений о механизмах лекарственной устойчивости. К настоящему времени опубликованы результаты секвенирования геномов

55 патогенных для человека грибов. Среди них отметим *Neosartorya fischeri* (*Aspergillus fischeri*), *Coccidioides immitis*, *Chaetomium globosum* и *Ajellomyces capsulatus*. С клинической точки зрения наиболее интересны результаты секвенирования геномов *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *A. oryzae* и др.

Наконец, исследования геномов патогенных и условно-патогенных грибов важны для поиска новых лекарственных препаратов. Так, в ряде грибов обнаруживаются уникальные вторичные метаболиты с установленной антагонистической активностью в отношении определенных грибов, а также других патогенных микроорганизмов. Напомним, что первый представитель группы эхинокандинов – эхинокандин В является вторичным метаболитом *Aspergillus rugulovalvus* (прежнее название – *Aspergillus rugulosus*, филогенетически близкий вид к *A. nidulans* и *Coleophoma empedri*), откуда и был выделен. Другим примером, который мы можем привести благодаря интенсивным геномным исследованиям, является *A. nidulans*. В геноме этого гриба содержится 27 генов поликетидных синтаз, 14 генов нерибосомных пептидных синтаз и 102 гена Р450-монооксигеназ, и с высокой степенью вероятности можно предполагать, что один или несколько вторичных метаболитов данного или другого гриба проявляют специфическую антимикотическую активность и могут рассматриваться как потенциальные фунгицидные лекарственные средства.

Таблица. Эхинокандины, одобренные для клинического применения

Препарат	Торговая марка и производитель	Показания
Анидулафунгин	<b>Eraxis</b> (Vicuron)*	Системные кандидамикозы, интраабдоминальный абсцесс или перитонит, обусловленные инфицированием <i>Candida spp.</i>
Каспофунгин	<b>Cancidas</b> (Merck)	Системные кандидамикозы, инвазивные аспергиллезы
Микафунгин	<b>Mycamine</b> (Fujisawa)	Кандидомикозы пищеварительного тракта

\* Анидулафунгин первоначально был открыт в лабораториях компании Eli Lilly (США) и запатентован как препарат LY 303366, но впоследствии лицензия и права на производство были переданы компании Versicor (США), в которой препарат обозначался как VER-002. В начале 2000-х гг. компания Versicor слилась с Biosearch Italia, образовав холдинг Vicuron Pharmaceuticals. Однако на данный момент все права перешли к американскому фармацевтическому гиганту Pfizer, который в 2005-2006 гг. приобрел Vicuron Pharmaceuticals за 1,9 млрд долларов. Покупка была вызвана желанием расширить линейку именно антимикотических лекарственных препаратов и антибиотиков, что также косвенно подтверждает высокую эффективность эхинокандинов.

## ИЗУЧЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИОЦИНЫ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И АНТИКАНДИДОЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Дорофеева Е.С., Блинкова Л.П., Катосова Л.К., Поликарпова С.В.*

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

*Научный центр здоровья детей РАМН*

*Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова*

*Москва*

Несмотря на разнообразие фармакологических противогрибковых средств, вопрос создания эффективного антикандидозного препарата по-прежнему актуален. Среди природных веществ с ингибиторной активностью наиболее перспективны пептидные или белковые комплексные субстанции – бактериоцины. Характерной особенностью многих бактериоцинов является антагонистическая активность в отношении близкородственных видов, низкая частота формирования резистентных к лекарствам клеток микроорганизмов [Блинкова Л.П., 1984, 1986, 2003].

Известно, что штаммы *Candida albicans* могут продуцировать бактериоциноподобные антибактериальные вещества. Это представляет значительный интерес для создания препарата направленного действия без поражения нормальной микрофлоры человека.

В ГУ НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН ведется поиск микроорганизмов – продуцентов бактериоцинов среди клинических образцов и объектов окружающей среды [Блинкова Л.П., Дорофеева Е.С. и др., 2005, 2006].

Нами были получены штаммы, выделенные из клинических образцов от здоровых и больных детей и взрослых разного возраста. Скрининг микроорганизмов осуществляли с использованием метода отсроченного антагонизма и его модификаций, используя в качестве индикаторов, помимо музейных клинические штаммы условно патогенных и патогенных микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней. Среди тест-культур был штамм *Candida albicans* ATCC 885-653.

В результате исследований изучены 68 штаммов микроорганизмов. Из них 32 (47%) обладали антибактериальной активностью. При этом оказалось, что в группе детей выявлено до 76% бактериоцинпродуцирующих культур. Однако микроорганизмы вида *Candida albicans* не синтезировали антагонистические вещества, действующие против выбранных нами индикаторов. Следует отметить, что только 2,5% исследованных нами ранее некандидозных штаммов ингибировали рост индикатора *Candida albicans* ATCC 885 653 [Дорофеева Е.С., Блинкова Л.П., Машенцева Н.Г., 2006].

Возможно, выявление продуцентов бактериоцинов с антикандидозной активностью среди *Candida albicans*, а также среди других представителей

таксономических групп, сопряжено с определенными трудностями. Учитывая, что метод определения антагонизма оказывает существенное влияние на обнаружение продукции бактериоцинов, выбранная методика будет модифицироваться применительно к данному виду микроорганизма.

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПЕРФТОРИРОВАННЫХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В КОНЕХОЗЯЙСТВАХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ И КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТЕЙ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ДРЕВЕСИНЫ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ**

*Зачиняев Я.В., Муромцев А.Б.,  
Соломенникова И.И., Сергиенко С.С.  
Санкт-Петербургский государственный  
университет сервиса и экономики*

*Калининградский государственный технический университет  
Всероссийский научно-исследовательский институт  
коневодства РАСХН, Рязанская обл.,  
Рыбновский р-он, п. Дивово, п/о «Институт коневодства»*

Проблема снижения биологической деструкции органических веществ приобретает большое значение в сельскохозяйственном строительстве, где в значительных объёмах применяются различные природные и синтетические материалы. Особенно значительным изменениям подвергаются конструкции и изделия из древесины в животноводческих помещениях, в том числе в помещениях конехозяйств. Так, древесные полы уже через 1 1,5 года истираются, загнивают и выходят из строя, несмотря на применение для их устройства древесины ценных хвойных пород.

Проведённые нами исследования показали, что состав микробов-деструкторов древесины в природе и в условиях животноводческих помещений заметно различен. В первом случае он более разнообразен, в то время как в животноводческих зданиях преобладают преимущественно микроскопические грибы, попадающие из отходов, из желудочно-кишечного тракта животных, а также с пылью. Однако условия для деструкции древесины в помещениях более благоприятны в связи с наличием большого количества питательных веществ, повышенной влажностью, невысокими плюсовыми температурами и дополнительным механическим разрушением.

Так, относительная влажность воздуха в животноводческих помещениях вообще и в помещениях конехозяйств, в частности, из-за испарений влаги и дыхания животных достигает 80-95%, причём она имеет максимальные значения у пола. Температура воздуха помещений колеблется от +5 до +20°C.



После трёх лет службы новые полы показали отличные эксплуатационные свойства, в то время как полы из натуральной древесины были за этот период дважды заменены на новые! При этом следует отметить, что исходным сырьём для модификации принята древесина малоценных лиственных пород (берёза, осина, ольха).

Проведённые исследования на биостойкость показали, что уже при 15-20 % содержании фторсодержащего препарата модифицированная древесина приобретает повышенную стойкость. Рост мицелия дереворазрушающих микроскопических грибов вглубь материала ограничивается молекулами применяемых веществ.

Таким образом, приведённые данные по предотвращению деструкции древесных материалов в условиях животноводческих помещений, в том числе помещений различных конезолярий, могут использоваться в природных полигонах для предотвращения разрушения их микроорганизмами.

Настоящая работа выполнена в рамках Координационной научно-технической программы исследований по коневодству на 2001 – 2005 г.г. (научное направление 3: «Усовершенствовать существующие и разработать новые технологии в животноводстве (коневодстве) на основе биологизации и экологизации процессов, обеспечивающие производство конкурентно-способной продукции»), в соответствии с научной программой Министерства образования РФ «Университеты России» (УР.05.01.044) и тематическими планами НИР Санкт-Петербургского государственного университета сервиса и экономики и Всероссийского научно-исследовательского института коневодства РАСХН (п. Дивово, Рязанская область), а также явилась частью исследований заказ-наряда 33.94 ГКВО РФ «Разработка научных основ процесса биотрансформации органических веществ и биополимеров».

## **ОЦЕНКА ОБОСНОВАННОСТИ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПАЦИЕНТАМИ ПРЕПАРАТОВ С ПРОТИВОГРИБКОВЫМИ СВОЙСТВАМИ ПРИ ДЕРМАТОЗАХ**

*Креницына Ю.М., Сергеева И.Г., Феоктистова Е.А.  
Новосибирский Государственный Университет  
МУЗ КВД №4  
Новосибирск*

Из 1131 пациентов на дерматологическом приеме в 2006 г 56 (4,9%) в анамнезе указывали на попытки самостоятельной терапии заболевания. Нами проанализировано 166 случаев обращения к дерматологу после проводимого самостоятельного лечения кожных заболеваний, пациенты

были в возрасте от 1 до 83 лет, средний возраст  $47,5 \pm 16,7$  лет, мужчин 41 (24,7%), женщин 125 (75,3%). 35 (21,1%) пациентов применяли средства с противогрибковой активностью.

Таблетированные препараты (Экзифин, Гризеофульвин, Ороназол, Низорал) самостоятельно применяли 2 человека, Экзифин пациент применял самостоятельно для лечения онихомикоза, в другом случае применение трех системных препаратов короткими курсами проводилось для лечения бляшечного параспориоза. Учитывая, что лечение онихомикоза было начато без предварительного лабораторного подтверждения заболевания, назначение препарата, содержащего тербинафин, не являлось рациональным, поскольку препарата не перекрывает весь спектр возможных возбудителей онихомикоза.

Лак Батрафен применял 1 пациент для лечения микоза стоп (дистальный онихомикоз, интертригинозная форма) в сочетании с курсами лориндена и кортомицетиновой мази, что не приводило к элиминации гриба с поверхности кожи подошвы и соответственно, не давало клинического и этиологического выздоровления, в результате развилась микотическая экзема, по поводу которой пациент обратился к дерматологу.

Наружные противогрибковые средства (Низорал, Ламизил, Экзодерил, Клотримазол, Микосептин, Нитрофунгин, Экодакс, Пимафуцин, Ундецин) использовали 20 человек для лечения микозов стоп (13 пациентов), среди которых у 6 наблюдали изменение ногтевых пластинок, у 2 – осложнение экзематизацией. В 2 случаях клотримазол применяли для лечения кандидоза крупных складок, в 1 – отрубевидного лишая, учитывая распространенный характер заболевания, применение наружного препарата в форме крема в данном случае также не являлось рациональным с точки зрения микологического излечения, т.к. не обрабатывались участки внешне здоровой кожи. В остальных случаях противогрибковые средства применяли для лечения красного плоского лишая, чесотки, опоясывающего герпеса, аллергического дерматита.

Комбинированные средства с клотримазолом (Тридерм, Акридерм ГК) использовали 5 пациентов для лечения экземы кистей (2 случая), экземы сухой кожи (1 наблюдение), микробной экземы (2 человека).

Настойку йода применяли 7 человек, при почесухе, отрубевидном лишае, микозе стоп (3 человека), аллергическом дерматите (2 человека).

Важно отметить, что кроме противогрибковых средств, 13 человек применяли одновременно другие лекарственные средства для системного (антигистаминные, антибиотики), наружного (гормональные мази; спиртовые растворы чистотела, календулы, резорцина; стрептоцид, цинковую пасту, медный купорос) и уринотерапию, что приводило к обострению кожного процесса.

Таким образом, применение противогрибковых средств было рациональным у 5 пациентов с микозами стоп без поражения ногтей и осложнения экзематизацией, 2 пациентов с кандидозом крупных складок, применение

комбинированных препаратов – у пациентов с экзематозными процессами. Только 12 пациентов из 35, начавших применение препаратов с противогрибковой активностью, действительно нуждались в применении антимикотиков в выбранной лекарственной форме, в большинстве случаев выбор лекарственных средств не мог привести к улучшению, затруднял последующие диагностику и лечение кожного заболевания.

## **РЕСУРСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЦЕЛЕВОЙ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, В ТОМ ЧИСЛЕ ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИКОЗОВ**

*Крутьков В.М.*

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН*

Основу практики разработки и применения химических и биологических препаратов самого разного назначения и типов действия (фармаконов) составляет представление о том, что сила целевого действия вещества в принципе зависит только от его дозы в месте действия. Известные приемы, направленные на повышение функциональной активности за счет использования вспомогательных средств, например ПАВ, сопряжены с решением задач лучшего проникновения агента в объект, оптимизации транспортно-распределительных отношений и уровня персистенции агента в объекте.

В отличие от этих традиционных воззрений, в последние годы получены данные принципиально иного характера. Согласно им, биологическая активность соответствующего агента является величиной комплексной. Она включает как собственную составляющую, обусловленную свойствами действующего начала (ДН), так и несобственную, индуцированную крайне интригующим взаимодействием ДН с некоторыми эмпирически подобранными инертными ингредиентами. По данным автора, полученным, главным образом, на материале одного из классов фармаконов – ДН ряда гербицидов и созданных на их основе инновационных рецептур – уровень несобственной активности (НА) может превосходить уровень собственной активности в разных группах соединений (по показателю ED50) до 10-100 раз, что, по-видимому, далеко не является пределом. Таким образом, использование вполне доступных инертных компонентов, начиная с индивидуальных ПАВ и их комбинаций, позволяет радикально увеличить силу целевого действия соответствующего фармакона. А это, применительно к медико-микологической проблематике, может самым существенным образом расширить возможности лекарственной терапии соответствующих заболеваний, в том числе микозов.

Предложенная общая процедура использования явления НА в практических целях носит название «межмолекулярного дизайна».

К важнейшим преимуществам инновационных препаратов, создаваемых на этой основе, относятся: продление «сроков жизни» известных ДН, возможности которых при традиционном использовании могут быть неоправданно рано признаны исчерпанными; опора на рецептуры, где основную массу составляют не ДН, а избранные инертные компоненты; радикальное снижение дозировок ДН в инновационных препаратах без ослабления лечебного эффекта, что очень важно в тех случаях, когда само ДН обладает более высокой, чем обычно признают за приемлемую, общей токсичностью; снижение себестоимости инновационных препаратов в сравнении с традиционными, что особенно ценно при использовании дорогостоящих и трудно синтезируемых ДН. Обнадеживающим следует признать и дальнейшее более глубокое использование феномена НА: для расширения (изменения) спектра действия препаратов *de novo*, а также для создания антирезистентных форм препаратов.

В области сопредельной тематике конгресса гербицидной проблематики начальный этап использования феномена НА показал, что последний проявляется на разных уровнях биологической организации, включая клетки, ткани, целостные органы (листья, корни) и растение в целом. При этом наибольший из обнаруженных вкладов в активацию имел место на уровне взаимодействия: агент – поверхностная и субповерхностная структура листа. Этот факт знаменателен в отношении проблем медицинской микологии, т.к. аналогичен характеру взаимодействия антигрибкового агента с местом проявления поверхностных и углубленных микозов на кожных покровах и слизистых оболочках.

По мнению автора, стратегия реализации явления НА в инновационных разработках лекарственных препаратов исключительно перспективна в целом, а в условиях современной России является, по-видимому, единственной практичной основой создания широкого спектра отечественных лекарственных средств современного уровня в ближайшие десятилетия.

## **ПОДАВЛЕНИЕ РОСТА КОЛОНИЙ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА УФ-ИЗЛУЧЕНИЕМ В ПРИСУТСТВИИ ФУРОКУМАРИНА**

*Мошин М.В., Яковлев А.Б.*

*НИИ медицинской биофизики МИФИ  
Москва*

Существующие методы лечения онихомикозов с использованием современных антимикотиков эффективны и удобны, но имеют ряд недостатков: препараты довольно дороги, лечение занимает весьма продолжительное время (от 1,5 месяцев для онихомикоза кистей до 6-12 месяцев для онихомикоза

стоп), нередко явления токсичности и индивидуальной непереносимости. Все это ограничивает применением системной терапии у соматически ослабленных пациентов пожилого возраста, в то время как именно эти больные составляют основу контингента микологических больных.

В 1980-х – 1990-х годах ряд авторов предлагал использовать для лечения поверхностных микозов кожи и ее придатков наружное применение фурукумаринов с последующим облучением очага поражения ультрафиолетовым светом спектра А (УФ-А), с длиной волны 320-400 нм.

Нами предпринята попытка изучить возможность подавления роста мицелиальной формы гриба – возможного возбудителя онихомикоза *in vitro* при воздействии УФ-излучением в присутствии фурукумарина.

Ход эксперимента. Удаленная ногтевая пластинка, пораженная грибом, измельчалась до порошкообразного состояния, и приготавливалась суспензия. Затем проводилось облучение взвеси УФ-А-лучами с добавлением растворов фурукумаринов (5-метоксипсорален, 8-метоксипсорален); использовались официальные препараты – 0,3% раствор аммифурина, 0,25% раствор <Анмарин>. Контрольный опыт состоял из трех фаз: 1) порция суспензии, оставленная без воздействия, 2) порция суспензии с добавлением фурукумарина (без облучения), 3) порция суспензии, облученная УФ-А, без фурукумарина.

Опытная и три контрольные порции суспензии одновременно высевались на среду Сабуро и инкубировались при 32°C в течение 7 дней.

Результаты. В образцах суспензии, облученных УФ-А с добавлением фурукумаринов рост гриба отсутствовал, в то время как в трех контрольных порциях наблюдался рост гриба *Rhodotorula rubra*, разной интенсивности, от максимальной в контрольной порции, оставленной без воздействия, до минимальной в порции, облученный УФ-А.

Таким образом, наиболее выраженным антимикотическим действием обладает комбинированное воздействие УФ-А и фурукумарина.

## **ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА *CANDIDA GUILLIERMONDII* ПРИ ДЕЙСТВИИ UVA-ИЗЛУЧЕНИЯ**

**Пиняскина Е.В.**

*Прикаспийский институт биологических ресурсов  
Дагестанского научного центра РАН*

Излучение Солнца носит непрерывный характер и простирается далеко в рентгеновскую область спектра. Однако в атмосфере коротковолновая компонента вызывает диссоциацию молекул кислорода с образованием озона (максимальная концентрация на высоте 28-30 км). Слой озона экранирует поверхность Земли и нижележащие слои атмосферы, поглощая все излучение с длиной волны короче 295 нм. В последние годы деятельность

человека влечет за собой прогрессирующее разрушение озонового экрана, что может привести к увеличению в приземном слое атмосферы интенсивности коротковолнового УФ-излучения со всеми вытекающими отсюда последствиями для земной жизни и здоровья человека.

Возникновение при воздействии УФ-излучения молекулярных повреждений ДНК, не устраняемых (или устраняемых не полностью) репаративными системами клетки, а также фотодеструкция белков и биомембран обуславливают развитие довольно многочисленных биологических эффектов.

Среди известных защитных механизмов, уменьшающих повреждающие эффекты УФ-излучения, важную роль играют процессы фотоиндуцированной защиты и репарации клеток. Отличаясь по феноменологии и механизмам действия, эти процессы сходны в том, что направлены на устранение либо предотвращение образования пиримидиновых димеров в ДНК. активным в инициации этих процессов является свет видимого и/или UVA-диапазонов спектра.

Ранее нами было показано, что устойчивость клеток к UVB-облучению (290-320 нм) можно повысить воздействием длинноволнового света с максимумом эффективности в красной области при 680 нм. По изученным закономерностям обнаруженный эффект принципиально отличается от известных процессов фотоиндуцированной защиты и репарации клеток. это позволило констатировать наличие у дрожжей неизвестного ранее фотоиндуцибельного защитного механизма, обеспечивающего защиту клеток от UVB-излучения, которое связано преимущественно с образованием пиримидиновых димеров и 6,4- аддуктов в ДНК.

Задача следующего этапа работы состояла в исследовании роли фотоиндуцибельной защитной системы в повышении устойчивости дрожжевых клеток к инактивирующему действию UVA-света. В этом случае указанные выше фотопродукты не вносят вклад в фотоинактивацию клеток и основными летальными повреждениями являются одноцепочечные разрывы ДНК, которые образуются с участием эндогенных фотосенсибилизаторов и активированных форм кислорода, т.е. по фотодинамическому механизму.

В этой серии экспериментов, используя ранее найденные режимы облучения, которые были оптимальны при фотоиндуцированном повышении выживаемости UVB-облученных клеток, мы выявили эффект фотовосстановления UVA-инактивированных клеток. Установлено, что повышение уровня выживаемости таких клеток наблюдается при воздействии света всех использованных ранее длин волн в диапазоне 600-730 нм, причем максимальный эффект фотореактивации проявлялся при облучении клеток красным светом 680 нм.

Полученные результаты дают основание считать, что в фотовосстановлении клеток при летальном действии UVA-излучения участвует та же фотозащитная система, что и при действии UVB-излучения. Это в свою очередь свидетельствует о том, что данная система направлена на устранение не только пиримидиновых димеров (как ферментативная фотореактивация),

но и других фотоповреждений, образующихся в ДНК, в том числе путем фотосенсибилизации (например, одноцепочечные разрывы).

Известно, что UVB- и UVA-индуцированные повреждения могут ликвидироваться системами репарации ДНК, из которых основными являются «темновые», (т.е. не нуждающиеся в свете) эксцизионная и пострепликативная.

Они менее специфичны, чем фотореактивация, и наряду с димерами способны устранять и другие повреждения структуры ДНК, однако механизм их работы сложнее и включает несколько последовательных стадий, контролируемых разными ферментами.

Нам представлялось целесообразным проверить, не связано ли действие обнаруженной нами фотоиндуцибельной защитной системы с фотоиндуцированной активацией этих репарационных систем.

Для решения поставленного вопроса мы исследовали способность к ФР680 мутантных штаммов дрожжей (*S. cerevisiae*), дефицитных по эксцизионной (*rad 3-2*) и пострепликативной (*rad 50-1*) репарации ДНК. Предварительно было показано, что такие клетки более чувствительны к UVB (*rad 3-2*) и UVA (*rad 50-1*) по сравнению с диким штаммом. Опыты по фотореактивации проводились по следующей схеме: клетки дикого штамма и мутантов *rad 3-2* или *rad 50-1* облучали фиксированной дозой UVB (2.4 кДж/м<sup>2</sup>) или UVA (18 кДж/м<sup>2</sup>), после чего их подвергали воздействию монохроматического света 680 нм. Как следует из полученных данных, фотореактивация мутантных штаммов наблюдается, причем ее эффективность примерно такая же, как и у дикого штамма. Эти данные могут указывать на то, что устранение UVB-, UVA-индуцированных повреждений ДНК в процессе ФР680 осуществляется без участия эксцизионной и пострепликативной репарации. Очевидно, действие фотоиндуцибельной защитной системы включает какой-то другой механизм ликвидации таких повреждений.

Установление того факта, что действие фотоиндуцибельной защитной системы не специфично в отношении природы повреждений ДНК, привело к постановке вопроса о возможном участии этой системы в устранении фотоповреждений не только в генетическом аппарате, но и в других клеточных структурах.

Защитная система обнаружена и изучена нами у разных штаммов дрожжей, мы предположили существование такой защитной системы у биологических объектов, относящихся к другим таксономическим группам. Существование этой защитной системы недавно обнаружено и у клеток млекопитающих (клеточные штаммы клеток НеБа, происходящие из злокачественной опухоли человека и клетки китайского хомячка B2d-ii-PAP28 (клон 237)).

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА—МИКОЗИДИНА ПРИСЫПКИ И МАЗИ В ОПЫТАХ IN VITRO

Пушкина Т.В., Крылова Л.Ю., Волосатова И.С.  
ФГУП Центр по химии лекарственных средств (ЦХЛС-ВНИХФИ)  
Москва

Цель: в ЦХЛС—ВНИХФИ разработана мазь микозидина 3% для лечения грибковых заболеваний кожи, вызванных дерматофитами: *Microsporum canis*, *Trichophyton gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* и дрожжей рода *Candida*. С целью разработки новой лекарственной формы микозидина в виде присыпки изучена антифунгальная активность присыпки в сравнении с мазью в опытах in vitro;

Методы: 3% присыпка представляет собой порошок для наружного применения белого цвета. В состав присыпки входят: двуокись цинка, тальк и кукурузный крахмал, действующим веществом присыпки также как и мази является противогрибковое средство микозидин. Исследования противогрибковой активности проводили методом двукратных серийных разведений на жидкой питательной среде Сабуро. Определяли минимальные подавляющие концентрации 2-х лекарственных форм микозидина (МПК). Активность присыпки и мази микозидина изучали в отношении клинических штаммов грибов-дерматофитов: 3-х штаммов *M.canis*, 2-х штаммов *Tr. gypseum*, *Tr.interdigitale*, а также дрожжеподобного гриба *S.albicans* ATCC 885-653. Величина инокулята в опытах с грибами составляла  $1 \times 10^6$  КОЕ/мл. Время инкубации для грибов-дерматофитов – 7-14 суток, для *S. albicans* 24 часа при 25°C;

Результаты: установлено, что 3% мазь микозидина оказывает фунгицидное действие в отношении дерматофитов *Microsporum canis*, *Trichophyton gypseum*, *Trichophyton interdigitale* в опытах in vitro в концентрации 15,6 мкг/мл. Присыпка микозидина 3% также как и мазь активно подавляет рост дерматофитов в концентрации 15,6 мкг/мл. Обе лекарственные формы обладают фунгицидной активностью в отношении *Candida albicans*. Таким образом, выявлено, что присыпка микозидина также как и мазь характеризуются высокой противогрибковой активностью в отношении грибов дерматофитов;

Выводы: проведенные исследования показали, что 3% присыпка микозидина, так же как и 3% мазь характеризуются высокой противогрибковой активностью в отношении грибов дерматофитов. Установлено, что разработанная в ЦХЛС—ВНИХФИ новая лекарственная форма микозидина — 3% присыпка, по активности in vitro идентична мази микозидина и может быть рекомендована для лечения заболеваний кожи, вызванных чувствительными к препарату дерматофитами и дрожжевыми грибами рода *Candida*.

## **АНТИГРИБНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА АВИКОЛ-Н**

**Сапожникова А.И.<sup>1</sup>, Кис И.В.<sup>1</sup>, Литвинов А.М.<sup>2</sup>,  
Искандаров М.И.<sup>2</sup>, Кис В.И.<sup>2</sup>**

*1* *Московская Государственная Академия ветеринарной медицины*

*2* *ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*

Дерматофитозы представляют серьезную опасность для пушного звероводства. У пушных зверей они значительно обесценивают меховое сырье, а обширно пораженные шкурки зачастую приходится уничтожать. Болезнь у пушных зверей, независимо от вида возбудителя, все чаще протекает по типу глубокого инфильтративного процесса и часто сопровождается кокковой инфекцией. Патологический процесс приводит к разрушению соединительной ткани и коллагеновых структур (А.М.Хилькин, А.Б.Шехтер, Л.П.Истранов, В.Л.Леменев, 1976; А.М.Литвинов, 1984), как это изображено на рис. 1.

Применение вакцинных препаратов не обеспечивает 100 %-ной защиты животных от микозов (Л.И.Никифоров, 1984, А.М.Литвинов, 1984).

В связи с вышеизложенным, изыскание новых наружно применяемых химиотерапевтических средств для лечения больных дерматофитозами животных является актуальной задачей.

На основании данных литературы и результатов собственных исследований нами был изготовлен комплексный антисептический препарат (рабочее название АВИКОЛ – Н), содержащий в качестве действующих веществ четвертичное аммонийное соединение (ЧАС) и тиамулин, а в качестве носителя – коллаген. Препарат предназначен для лечения кожных болезней животных различной этиологии. Все компоненты, входящие в состав АВИКОЛА – Н, несут определенную функциональную нагрузку. Так, коллаген, будучи высокомолекулярной матрицей, на которой иммобилизованы антисептические компоненты, снижает токсичность и пролонгирует их действия (А.И.Сапожникова, 1999 г.). Четвертичные аммонийные соединения выполняют роль антисептиков (Е.Иванова, 2000; А.Г.Милянковский, 2000). Тиамулин – антибиотик с бактериостатической активностью широкого спектра действия (В.Н.Скворцов, А.В.Голиков, В.И. Кис, 2006).

Для оценки возможностей использования АВИКОЛА – Н в ветеринарной практике была проведена оценка его токсикологических показателей, что позволило разработать предельно допустимые уровни ввода отдельных компонентов в состав препарата. Согласно нашим данным, при пероральном применении белым мышам, ЛД<sub>50</sub> составляет 16000 мг/кг (суммарное действие ЧАС и тиамулина). Величина ЛД<sub>50</sub> коллагена превышала максимально переносимую дозу – 10 г/кг, что дало основание отнести эти вещества к 4 классу малоопасных, малотоксичных веществ.



T. menta- grophytes	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
M. canis	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Примечание: + наличие, – отсутствие роста гриба.

Антибактериальную активность комплексного препарата АВИКОЛ-Н также определяли методом серийных разведений. В качестве тест-культуры использовали золотистый стафилококк (штамм № 209) из расчета 0,5 миллиарда микробных клеток на 1 см<sup>3</sup> среды. Густоту смыва суточной агаровой культуры стафилококка устанавливали по стандарту мутности № 10.

При росте стафилококка происходит сбраживание глюкозы, находящейся в среде и изменение pH среды в кислую сторону, благодаря чему среда мутнеет и приобретает синий цвет с зеленоватым оттенком.

Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2. Антибактериальная активность препарата АВИКОЛ-Н

Тест-культура	Ряд	Концентрация ЧАС* и тиамулина (мкг/см <sup>3</sup> ) при разведении препарата									К
		125	63	32	16	8	4	2	1	0,5*	
		500	125	63	32	16	8	4	2	1	
		1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	10240	
St. aureus №.209	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Примечание: + наличие, – отсутствие роста стафилококка

Как видно из данных таблицы 2, рост стафилококка отмечался только в 2 пробирках, где содержался препарат в разведении 1:10240 (концентрация ЧАС 0,5 и тиамулина – 1 мкг/см<sup>3</sup> среды). В результате проведенного опыта было установлено, что препарат АВИКОЛ-Н обладает выраженной антимикробной активностью. Содержание действующих веществ – ЧАС и тиамулина в концентрациях 1 и 2 мкг/мл и выше препятствует росту золотистого стафилококка внесенного в питательную среду в концентрации 500 000 микробных клеток/см<sup>3</sup> (срок наблюдения-6 суток), во всех контрольных флаконах интенсивный рост стафилококка наблюдали уже через 10-12 часов.

**Заключение.** Комплексный препарат АВИКОЛ-Н обладает выраженной антигрибной и антимикробной активностью *in vitro* и малотоксичен для белых мышей, что является предпосылкой для клинических испытаний на животных при кожных болезнях грибной и бактериальной этиологии.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

*Тарасова Т.Д., Липницкий А.В., Лесовой В.С., Андрус В.Н.*  
ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Наиболее вероятными агентами биотерроризма среди особо опасных микозов являются возбудители кокцидиомикоза и гистоплазмоза (*Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*), которые в почве эндемичных районов существуют в сапрофитической (мицелиальной) фазе. Патогенез этих инфекций связан с первичной ингаляцией споровых элементов этой фазы. Аэрозоли грибов могут длительное время находиться в воздухе, вызывая поражение населения, что указывает на необходимость разработки и совершенствования средств и способов обеззараживания объектов внешней среды.

В настоящее время нет достаточно эффективных и надежных противогрибковых дезинфицирующих средств. В последние годы широкое применение нашли препараты, в состав которых входят четвертичные аммониевые соединения (ЧАС). Соединения этого класса обладают выраженными противомикробными свойствами, мало токсичны для человека, хорошо растворимы в воде, не вызывают коррозии металлов, не имеют резкого запаха. Микробицидное действие ЧАС связано с дезорганизацией биополимеров клеточной оболочки, вызывающей нарушение ее проницаемости и «утечку» низкомолекулярных продуктов обмена веществ.

Сейчас становится актуальной проблема появления резистентности к биоцидам. Так, например, зарубежными исследователями (*Terleckyi, Ayler, 1993*) было показано, что выделенные в клинических условиях мицелиальные грибы *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton crurus*, *Aspergillus fumigatus* были устойчивы к ЧАС, иодофорам и фенолсодержащим препаратам. Недавно появилось сообщение, что аспергиллы могут расти в присутствии одного из ЧАС-катамина АВ (Гончарова, Ровбель, Мицкевич, 2005). Оказалось, что 0,7 % спор катамицинустойчивого штамма *A.fumigatus* выживают в 10 % растворе дезинфектанта в течение 2 ч. Более того, авторы показали, что многократное использование препаратов на основе ЧАС приводит к стимуляции роста плесневых грибов.

В настоящее время ведется активная работа по повышению фунгицидной активности четвертичного аммония путем дополнительного введения других

соединений. Было интересно выяснить, какие добавки могут повлиять на фунгицидные свойства препаратов ЧАС. Ранее обнадеживающие данные были получены исследователями, изучавшими действие на грибы нового дезинфектанта тефлекс, содержащего полигуанидины — ПАГ (Васильев, Светлов, Сдобнова, 2005).

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение фунгицидной активности препаратов ЧАС с такими добавками как глутаровый альдегид (септодор-форте, лизоформин 3000, новодез-форте), полигуанидины (дезофран) и метасиликат натрия (Рик-Д) и сравнение их с действием ЧАС, не содержащих этих добавок (катамин АВ, септабик, бромосепт, велтолен) в отношении возбудителей кокцидиоидомикоза и гистоплазмоза, находящихся в сапрофитической (мицелиальной) фазе и, следовательно, представляющих опасность для заражения.

Устойчивость грибов к дезинфектантам проверяли согласно «Единым инструктивно-методическим указаниям по изучению и отбору новых средств дезинфекции и стерилизации, безопасных для применения в практике» (1985).

В качестве тест-штаммов использовали музейные культуры *H.capsulatum* 6650 и *S.immitis* М-11, полученные из коллекционного центра Волгоград-НИПЧИ. Мицелиальную фазу грибов выращивали в течение 45 сут до получения зрелой спороносящей культуры. Исследование дезинфицирующей активности препаратов проводили суспензионным методом и на тест-поверхностях (Тарасова и др., 2004).

В результате проведенных экспериментов было показано, что *S. immitis* более устойчив к препаратам ЧАС, чем *H.capsulatum*, что подтверждает ранее полученные результаты (Тарасова и др., 2004).

Минимальная фунгицидная концентрация (МФК) катамина АВ, септабика, Бромосепта, велтолена, септодора – форте, лизоформина и новодеза колебалась для него от 0,001% до 0,006% (по препарату), что на порядок превышало соответствующий показатель для возбудителя гистоплазмоза (0,0001% -0,0006%). Испытание композиции ЧАС с полигуанидинами (дезофран) и метасиликатом натрия (Рик-Д) показало увеличение МФК для *S.immitis* в 10 (0,04%) и 100 (0,4%) раз, соответственно.

Учитывая, что главным критерием выбора дезинфектантов является их эффективность для обеззараживания объектов внешней среды мы испытали препараты ЧАС для дезинфекции гладких (стекло, кафель) и шероховатых (керамика, дерево) поверхностей.

Показано, что 0,5-3,0% растворы септабика, велтолена, бромосепта 50, катамина АВ, септодора, дезофрана и Рик-Д не позволяют достигнуть фунгицидного эффекта даже при экспозиции 120 мин. Фунгицидной активностью обладают лишь препараты ЧАС с глутаровым альдегидом (септодор-форте, лизоформин 3000, новодез-форте), которые в концентрации 0,1% и экспозиции 60-120 мин обеззараживают как гладкие, так и шероховатые поверхности.

Таким образом, препараты класса ЧАС, содержащие глютаровый альдегид, могут быть использованы для дезинфекции объектов внешней среды, контаминированных или подозрительных на контаминацию патогенными грибами. Другие композиции не обладают фунгицидным эффектом.

## **ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИМИКОТИКА ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА МИКОЗИДИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ СИСТЕМНОМ ПРИМЕНЕНИИ**

*Шилова И.Б., Пушкина Т.В.*

*ФГУП Центр по химии лекарственных средств (ЦХЛС-ВНИХФИ)  
Москва*

Цель: с целью разработки новой лекарственной формы для системного применения оригинального антимикотика, производного тиазолидин-2,4-диона – микозидина, проведено изучение химиотерапевтической активности в эксперименте *in vivo* при приеме внутрь;

Методы: исследование проводили на модели экспериментальной микроsporии морских свинок, зараженных зоопатогенным штаммом *Microsporum canis*. Для прививки брали фрагмент 10-12 дневной культуры возбудителя вместе с агаром Сабуро и поражённые волосы. Противогрибковую эффективность производного тиазолидин-2,4-диона изучали в сравнении с гризеофульвином. Обе субстанции вводили животным внутрь в крахмальном геле в течение 21 дня, в дозе 100 мг/кг. Эффективность оценивали на фоне развившегося инфекционного процесса на протяжении 21 дня лечения и 14 дней после окончания лечения по следующим параметрам: 1) специфическое свечение в лучах люминесцентной лампы Вуда (при наличии возбудителя); 2) микроскопическое исследование материала; 3) время восстановления шёрстного покрова;

Результаты: полученные результаты свидетельствуют о том, что применение производного тиазолидин-2,4-диона – микозидина внутрь в дозе 100 мг/кг по противогрибковой эффективности не уступает гризеофульвину. Показатели терапевтической эффективности микозидина и гризеофульвина составили 85 и 90 % соответственно по сравнению с контролем. При проведении 21 дневного курса лечения у 50% животных получавших производное тиазолидин-2,4-диона зарегистрирована полная санация очагов поражения и клиническое выздоровление. В группе животных получавших гризеофульвин у всех животных по окончании лечения наблюдалось специфическое свечение кончиков волосков шерсти в лучах лампы Вуда;

Выводы: субстанция нового антимикотика производного тиазолидин-2,4-диона – микозидина при введении внутрь обладает выраженной химиотерапевтической эффективностью сопоставимой с эффективностью

гризеофульвина на модели микроспории морских свинок. При этом микозидин обладает существенным преимуществом перед гризеофульвином, поскольку при применении последнего для предотвращения повторного заражения необходима эпиляция волос в очаге поражения, чего не требуется при применении производного тиазолидин-2,4-диона.

## **НОВЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ АНТИФУНГАЛЬНОГО И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ МИКОБАКСАН**

*Яценко А.С.  
ВИЭВ*

Многолетний опыт применения антибиотиков для лечения и профилактики болезней, а также в качестве активных компонентов в премиксах для улучшения развития и повышения продуктивности животных свидетельствует об их экономической полезности.

Ежегодное мировое производство антибиотиков составляет тысячи тонн. Выпускается и применяется огромный ассортимент антибиотиков и различных лекарственных форм.

Антибиотики оказывают антимикробное действие в очень малых концентрациях, многие из них обладают широким спектром действия.

Известно, что длительное применение высоких доз антибиотиков и сульфаниламидов может вызывать у животных дизбактериоз с последующей активизацией дрожжеподобных грибов рода кандиды, вызывающих кандидозы, и которые излечиваются очень тяжело.

В связи с этим мы разработали новую комплексную лекарственную форму пролонгированного действия – МИКОБАКСАН, в состав которой входят такие антибактериальные препараты, как левомецетин (хлорамфеникол), тетрациклин (окситетрациклина гидрохлорид), нистатин, сульфадимезин, а также 1,2 – пропиленгликоль, ПЭГ (200, 400, 600), диметилсульфоксид (ДМСО) и новокаин.

1,2-пропиленгликоль и ПЭГ (200, 400, 600) используется в качестве растворителей твердых компонентов сложных препаратов, а также в качестве пролонгаторов и антифризов.

Диметилсульфоксид – наружное средство для местного применения при воспалительных и некоторых других заболеваниях.

В соответствии с «правилами экспериментального изучения ветеринарных фармакологических препаратов» и другими, нами были изучены: острая и хроническая токсичность для норок, песцов и лисиц, переносимость препарата животными.

Острую токсичность Микобаксана изучали на песцах и норках, путем подкожного введения им различных доз препарата при 10 –дневных сроках наблюдения. Использовано 21 животное каждого вида.

Переносимость изучали на песцах, норках и лисицах. Использовано 10 песцов, 10 норок и 10 лисиц.

При исследовании хронической токсичности Микобаксана, препарат вводили внутримышечно норкам, песцам и лисицам, ежедневно в течении 10 дней в лечебной дозе: норкам – , песцам – , лисицам – .

Определяли содержание антибиотиков в органах и тканях животных после применения Микобаксана, после внутримышечного введения.

Внутриматочно Микобаксан применяли для лечения и профилактики эндометритов осложненных воздействием патогенной и условнопатогенной микрофлоры. В расчете на нативный препарат больным лисицам и песцам вводили по 5 – 15 мл, норкам по 2-5 мл, два – четыре раза с интервалом 3 – 5 дней в зависимости от тяжести течения болезни. В течение 7 – 10 дней наблюдалось очищение матки и выздоровление животных.

## **Глава 8**

---

# **ЗООАНТРОПОНОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ И МИКОЗЫ ЖИВОТНЫХ**

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ «СТРЕПТОМИК» ПРИ АССОЦИАТИВНЫХ БОЛЕЗНЯХ КОЖИ (ТРИХОФИТИИ, МИКРОСПОРИИ И СТРЕПТОКОККОЗА) ПЛОТОЯДНЫХ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ

*Генералов Р.В.*

*Всероссийский научно-исследовательский  
институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*

Ветеринарная наука добилась ощутимых результатов в борьбе с многими инфекционными болезнями плотоядных пушных зверей, однако некоторые из них, в том числе трихофития, микроспория и стрептококкоз полностью не ликвидированы.

Согласно результатам наших исследований большинство ассоциативных инфекционных болезни кожи у пушных зверей вызывают дерматофиты *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, стрептококки и стафилококки. Источником возбудителей инфекций служат больные животные.

Звероводческие хозяйства во многих регионах РФ считаются неблагополучными по дерматофитозам и стрептококкозу.

Чтобы снизить заболеваемость зверей указанными болезнями и облегчить труд ветеринарных специалистов, мы приступили к разработке ассоциированной инактивированной вакцины против дерматофитозов и стрептококкоза.

Первые и последующие опыты по испытанию вакцины были проведены в одном из неблагополучных по этим болезням звероводческом хозяйстве.

Из выделенных от больных щенков песцов штаммов дерматофитов *Trichophyton mentagrophytes* и *Microsporum canis* был приготовлен живой грибной компонент вакцины, который далее ассоциировали с компонентом из инактивированного формальдегидом штамма стрептококка, выделенного от тех же песцов. Концентрации формальдегида в стрептококковом антигене было достаточно для инактивации включенного в состав вакцины комплексного грибного антигена.

Комплексный ассоциированный инактивированный антиген против дерматофитозов и стрептококкоза мы назвали вакциной «СТРЕПТОМИК».

Полученная вакцина была проверена нами сначала на безвредность, а затем на иммуногенность на животных.

Безвредность вакцины на лабораторных животных (морских свинках) была проверена путем внутримышечного введения препарата в 3-х кратной иммунизирующей дозе. Общего угнетения в течение 10-дневного срока наблюдения не зарегистрировано, животные свободно перемещались в клетках и поедали корм.

При внутримышечном введении 3-х кратной иммунизирующей дозы вакцины песцам и лисицам у отдельных животных на месте инъекции появлялась небольшая припухлость, которая самопроизвольно исчезала на 3 – 5 сутки.

Иммуногенность вакцины предварительно проверили через 30 суток после двукратной внутримышечной иммунизации с интервалом 15 суток методом экспериментального заражения подопытных и контрольных лабораторных животных (морских свинок) нанесением на ранее освобожденную от волоса и скарифицированную кожу вирулентных штаммов дерматофитов *T. mentagrophytes* и *M. canis*, а также 3-х суточной бульонной культуры стрептококков с содержанием 10 млн/см<sup>3</sup> микробных клеток. Все подопытные животные оказались невосприимчивыми к заражению. Контрольные морские свинки заболели дерматофитозами, а у зараженных стрептококком – на месте инокуляции бактерий зарегистрированы гиперемия, мокнутие, эрозии и корочки золотистого цвета, исчезнувшие спустя 10 – 15 дней после заражения.

Напряженность иммунитета к дерматофитозам проверяли методом кожного заражения иммунизированных (20 гол.) и неиммунизированных (контрольных) песцов (12 гол.), непосредственно в неблагополучном по дерматофитозам хозяйстве вирулентными культурами *T. mentagrophytes*, *M. canis* и стрептококка, выделенными от больных зверей этой же звероводческой фермы. Заражение производили по 5 гол. иммунизированных и по 3 гол. неиммунизированных животных на каждый вид возбудителей. В результате все иммунизированные песцы остались здоровыми, а контрольные животные заболели с проявлением типичных клинических признаков трихофитии, микроспории и кожного стрептококкоза.

Напряженность иммунитета у иммунизированных песцов к дерматофитозам и стрептококкозу мы проверили аналогично через 3, 6, 9 и 12 месяцев. К контрольному заражению дерматофитозами все иммунизированные песцы оказались невосприимчивыми, а неиммунизированные – заболели. К заражению патогенным стрептококком животные подопытных групп оказались невосприимчивыми только в течение 6 месяцев после иммунизации. Через 9 месяцев из 5 иммунизированных животных к экспериментальному заражению стрептококком восприимчивыми оказалось 2, через 9 месяцев – 3, а через 12 месяцев все 5.

Результаты, полученные в предварительных экспериментах позволяют судить о том, что ассоциированная вакцина «СТРЕПТОМИК», введенная внутримышечно с ревакцинацией через 15 суток, создает у песцов невосприимчивость к дерматофитозам длительностью 12 месяцев, а стрептококкозу – не менее 6 месяцев.

## ТЕРАПИЯ СОБАК И КОШЕК, БОЛЬНЫХ МИКРОСПОРИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ДЕРМАТОФИТОМ MICROSPORUM CANIS

**Едилов Р.И.**

*Московская государственная академия ветеринарной медицины  
и биотехнологии имени К.И. Скрябина*

Микроспория – инфекционная зоонозная болезнь грибной этиологии дерматофитоз). Возбудитель – *Microsporum canis*. К болезни восприимчивы лошади, животные семейств псовых и кошачьих, кролики, а также человек.

Микроспория распространена во всех странах мира, включая Россию.

Больные животные семейства кошачьих являются одновременно природным резервуаром, источником и переносчиком болезни.

Лечение больных микроспорией животных и их профилактика – до сих пор являются актуальной проблемой.

В период с августа 2003 г. по декабрь 2006 г. нами в ветеринарных клиниках г. Москвы и Московской области было исследовано по поводу дерматофитозов 69 собак и 196 кошек. Все исследуемые животные поступили на лечение с характерными признаками дерматофитоза: аллопеции отдельных участков тела, шелушение эпидермиса, наличие корочек и струпуев, легкий зуд.

Микроспория, обусловленная дерматофитом *M.canis*, была подтверждена лабораторными исследованиями у 32 собак и 184 кошек.

После постановки диагноза, в качестве специфической терапии мы использовали инактивированные вакцины: Вакдерм, Вакдерм – F и Поливак. При поверхностной микроспории, характеризующееся только аллопециями и шелушением эпидермиса, терапевтический эффект от применения вакцин не всегда оказывался положительным, вероятно потому, что антитела, индуцированные в организме животных указанными препаратами, не имели достаточного контакта с грибными антигенами.

Специфическая профилактика микроспории животных по этой же предполагаемой причине также оказывается не всегда эффективной при заражении животных слабовирулентным штаммом дерматофита, вызывающего поверхностную форму микоза, когда гриб размножается преимущественно в волосе до волосяного фолликула и в ороговевших чешуйках эпидермиса.

С целью достижения большего терапевтического успеха, мы параллельно с лечебной вакцинацией применяли наружно используемые антифунгальные лекарственные средства: мазь Ям, Фунгин, спрей Зоомиколь и др. Этим достигался хороший эффект в лечении больных поверхностной формой микроспории животных, а также их профилактика от заражения более вирулентными штаммами дерматофита.

Одни антимикотики для наружного применения позволяют избавиться больное животное только от локального микотического процесса, но не позволяют освобождать макроорганизм от возбудителя инфекции на длительный срок, так как не создают иммунитета. Тотальная обработка с целью ликвидации миконосительства может осложниться токсическим воздействием этих препаратов.

Следовательно, при лечении животных, больных как глубокой, так и поверхностной формами микроспории, наряду с применением иммунологических препаратов, одновременно следует использовать эффективные антимикотики наружного применения, позволяющие ускорить процесс выздоровления пациентов и предотвратить контаминацию спорами дерматофита окружающей среды.

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ МИКОКАНИФЕЛ ПРИ ДЕРМАТОФИТОЗАХ СОБАК И КОШЕК**

*Лукьяшина А.Н.*

*ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*

Дерматофитозы (дерматомикозы, стригущий лишай) животных – это зооантропонозные болезни, характеризующиеся поражением кожи и ее производных.

Болезни вызывают несовершенные грибы родов *Trichophyton* и *Microsporium* (основные возбудители трихофитии – *Trichophyton mentagrophytes*, а микроспории – *Microsporium canis*).

Природным резервуаром трихофитии и микроспории являются соответственно мышевидные грызуны и кошки. В домашних условиях основным источником возбудителей инфекции служат больные животные и человек. Факторами передачи возбудителей инфекции могут служить подстилка, предметы ухода и др.

В связи с принятой в 1999 году Правительством Москвы программой стерилизации бездомных собак и кошек, в городе ведется строгий учет бездомных животных. Ежегодно насчитывают около 25 тысяч бездомных животных, причем этот показатель на протяжении ряда лет достаточно стабилен. Поэтому для владельцев домашних животных Москвы и Московской области существует актуальная проблема обеспечения защиты своих питомцев от перезаражения дерматофитозами, так как бездомные животные являются постоянным источником возбудителей указанных инфекций.

За последние 15 лет в России был разработан ряд инактивированных и живых вакцин (например, Вакдерм, Поливак, Микродерм и др.), которые широко используются. Однако их применение, как показывает практика, недостаточно эффективно в отношении микроспории и, в ряде случаев,

приводит к поствакцинальным осложнениям в форме абсцессов, приводящим к значительному снижению иммунного ответа.

В настоящее время разрабатывается новая ассоциированная инактивированная вакцина против трихофитии и микроспории собак и кошек – МИКОКАНИФЕЛ. При ее разработке были учтены недостатки ранее созданных вакцин. Введение МИКОКАНИФЕЛ не вызывает отрицательных реакций у иммунизируемых животных. В процессе ее изготовления иммуногенный материал (белки, полисахариды) не подвергаются разрушению, но останавливается жизнедеятельность в грибных клетках. Аутолиз грибных клеток предотвращается специальным методом консервации. Кроме того у вакцины практически неограниченный срок хранения и высокая устойчивость к воздействию неблагоприятных внешних факторов.

На базе предприятия БиоХимФарм г. Владимира было изготовлено несколько опытных серий вакцины МИКОКАНИФЕЛ, которую испытали в разных климатических зонах страны при дерматофитозах собак и кошек.

Результаты проведенных опытов вполне оптимистичны. Например, в Пермской области с профилактической целью было привито 35 кошек и 25 собак, введенных через 30 дней в контакт с больными дерматофитозами животными. Наблюдение велось в течение 12 месяцев. Опыт показал, что профилактическая эффективность вакцины составила 100 % у кошек и 99 % у собак, а терапевтическая – 100 % у обоих видов животных. В г. Владимире с профилактической целью было привито 38 кошек и 18 собак, и эффективность составила 100 %. Терапевтическая эффективность на обоих видах животных (12 кошек и 14 собак) составила соответственно 98% и 99%. Примерно аналогичные результаты были получены в ходе испытания вакцины Микоканифел на собаках и кошках в Ивановской, Ростовской и Московской областях.

Лечение больных дерматофитозами животных средствами для наружного и внутреннего применения не всегда даёт положительные результаты или имеет определенные сложности (многократность аппликаций, отрицательные побочные эффекты, дороговизна и пр.).

В заключение следует отметить, что экспериментальная вакцина МИКОКАНИФЕЛ высокоиммуногенна и безвредна для животных.

## МИКОНОСИТЕЛЬСТВО ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ – ОСНОВНОЙ ФАКТОР РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ ДЕРМАТОФИТОЗОВ ЛЮДЕЙ

Маноян М.Г., Овчинников Р.С., Панин А.Н.  
ФГУ ВГНКИ  
Москва

Дерматофитозы (трихофития и микроспория) продолжают оставаться одними из самых распространенных инфекционных заболеваний в ветеринарной практике, имеющих высокую социальную значимость. Домашние животные – основной резервуар грибов-дерматофитов и важнейший вектор распространения дерматофитозов среди людей. В частности, заражение человека микроспорией в подавляющем большинстве случаев происходит от животных, а передача инфекции от человека к человеку наблюдается довольно редко (I. Weitzman et al., 1995). Заболеваемость дерматофитозами людей и животных находится в теснейшей взаимосвязи, и эффективная борьба с этими заболеваниями возможна только при объединении усилий медицинских и ветеринарных служб.

Источником заражения человека являются не только больные животные с клинически выраженным дерматофитозом. Существенную эпидемиологическую опасность представляют также клинически здоровые животные, являющиеся скрытыми (бессимптомными) носителями грибов-дерматофитов. Животные-миконосители создают угрозу заражения для человека, других домашних животных, а также контаминируют спорами возбудителя объекты окружающей среды. Проблема бессимптомного миконосительства (БМ) животных в настоящее время практически выпала из поля зрения специалистов-микологов, однако без ее решения невозможно добиться полного эпидемиологического и эпизоотологического благополучия по дерматофитозам.

БМ – состояние, при котором покоящиеся споры патогенных грибов (дерматофитов) находятся на кожном покрове животного, не проявляя инвазивных свойств, однако сохраняя свой патогенный потенциал. Хотя инфекционный процесс как таковой при БМ отсутствует, постоянно существует риск перехода возбудителя из покоящейся в активную паразитарную фазу. Пусковым механизмом для этого могут служить травмы кожного покрова, факторы, ведущие к снижению резистентности организма, и т.д. Следует отличать БМ от инкубационного периода и субклинического течения дерматофитоза. При БМ споры гриба на кожном покрове могут оставаться в покоящемся состоянии неопределенно долгое время.

Среди видов дерматофитов, обнаруживаемых на кожном покрове животных, доминирующую роль занимают зооантропофильные виды, представляющие опасность для человека. *Microsporum canis* может присутствовать на кожном покрове кошек, собак, лошадей, пушных зверей. *Trichophyton*

mentagrophytes обнаруживается у собак, грызунов, пушных зверей, лошадей; *T. verrucosum* – у крупного и мелкого рогатого скота. Патогенный для человека *M. gypseum* встречается на шерстном покрове лошадей и собак. Кроме того, животные могут являться носителями антропофильных видов дерматофитов. В частности, *T. rubrum* был выделен с кожного покрова кошек (K. Moriello et al., 1991).

Большинство животных, окружающих человека, представляют потенциальный риск в качестве источника заражения дерматофитозом. Наибольшую эпидемиологическую опасность представляют домашние животные-компаньоны (собаки, кошки, реже грызуны), имеющие наиболее длительные и тесные контакты с людьми. Спортивные животные (прежде всего лошади) также могут являться источником заражения для человека, особенно на фоне растущей популярности конного спорта. Сельскохозяйственные животные (крупный и мелкий рогатый скот), пушные звери (песцы, норки, кролики, нутрии и т.д.) являются основными резервуарами грибов-дерматофитов в сельской местности. Важную роль в персистенции возбудителей дерматофитозов играют синантропные грызуны (мыши, крысы). В ряде случаев в качестве источника возбудителя для человека могут выступать дикие животные (при контактах с ними в лесопарках, на охоте и т.д.).

БМ во многом обусловлено широким распространением грибов-дерматофитов во внешней среде. Этому способствует устойчивость дерматофитов к воздействию внешних неблагоприятных факторов, антропогенное загрязнение окружающей среды, смягчение климатических условий в средней полосе, а также социальные факторы (например, антисанитарные условия содержания домашних животных).

Учитывая широчайшее распространение дерматофитов во внешней среде, пути инфицирования здоровых домашних животных могут быть самыми разнообразными, а именно: при непосредственном контакте с больным животным или миконосителем; через почву или через загрязненные почвой предметы (обувь, одежда, инвентарь и т.д.); через средства ухода за шерстью и зооинвентарь (щетки, триммеры, ошейники, сумки-переноски и т.д.); через предметы быта и домашнего обихода (ковры, мебель, одежду, белье и т.д. и т.п.); через воздух.

Таким образом, практически любое домашнее животное потенциально имеет риск стать бессимптомным миконосителем. Вместе с тем под воздействием ряда факторов вероятность возникновения БМ многократно повышается. Среди таких предрасполагающих условий следует выделить: неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия содержания животного: загородное (надворное, выгульное) содержание; контакты с бродячими и дикими животными; скученное содержание животных (в т.ч. в питомниках, у заводчиков и т.д.); активная племенная работа; мероприятия с массовым скоплением животных (выставки собак и кошек, соревнования с участием животных, перевозки и т.д.); отсутствие микологического контроля выздоровления при терапии дерматофитозов в повседневной ветеринарной

практике (животное после клинического излечения дерматофитоза остается скрытым миконосителем).

Приведенные выше факторы обуславливают широкое распространение БМ среди животных, находящихся в контакте с человеком. По данным зарубежных авторов, количество животных-миконосителей среди кошек достигает 75-88%, среди собак – 36-66%, среди кроликов, грызунов – 26-61%, среди крупного рогатого скота – 59% (G. Caretta et al., 1989, M. Ali-Stayeh et al., 1988, M. Sympania et al., 1996, M. Gallo et al., 2005, M. Otcenasek et al., 1980). Распространенность БМ среди домашних животных на территории РФ практически не изучалась.

Животное-миконоситель создает непосредственную угрозу заражения контактирующих с ним людей, является постоянным источником контаминации окружающей среды спорами дерматофитов, из-за чего в месте содержания животного фактически создается стационарный очаг инфекционного заболевания (F. Mancianti et al., 2003). Установлено, что заболеваемость дерматофитозами в семьях, где содержатся животные, на 60-70% выше, нежели в семьях, не имеющих животных (T. Katoh, 1990). Наибольшую опасность животные-миконосители представляют для детей, так как именно дети имеют наиболее тесные и длительные контакты с домашними животными (W. Beck, 1998).

С точки зрения эпидемиологического процесса, для заражения человека большую угрозу представляют животные-миконосители, нежели животные с клинически выраженным дерматофитозом. При наличии клинических признаков владелец как правило обращается за ветеринарной помощью, при постановке диагноза назначается лечение и проводится комплекс санитарно-гигиенических мероприятий. В случае БМ никаких терапевтических и санитарно-гигиенических мер не принимается, что ведет к длительному бесконтрольному распространению инфекционного агента. Дерматофитоз может проявиться у владельца животного, в то время как само животное-миконоситель будет оставаться клинически здоровым. В дерматологической практике нередко дерматофитоз первоначально диагностируют у владельца животного при его обращении с жалобами на кожные поражения, и лишь после этого выясняется источник заражения – домашнее животное-миконоситель (В. Рукавишникова, 2006).

Широкое распространение БМ среди животных отражается на эпидемиологии дерматофитозов людей и приводит к преобладанию в этиологической структуре зоофильных видов над антропофильными. Эта тенденция наблюдается как в РФ, так и в зарубежных странах. По данным В. Яцуха с соавт. (2003), в 2001 г. в РФ заболеваемость зоонозной микроспорией в 20 раз превысила заболеваемость трихофитией. В настоящее время в РФ заболеваемость микроспорией составляет 52,4 человека на 100.000, из которых 78% случаев приходится на детское население (М. Иванова, 2006). В Башкортостане и Узбекистане в структуре дерматофитозов доминирует зоонозная трихофития, среди заболевших также преобладают

дети (А. Султанбаев, 2005; Ш. Хамидов, 2006). Растущую роль зоонозных дерматофитозов многие авторы справедливо связывают с недостаточной эффективностью ветеринарного надзора.

М. Lunder (1992) свидетельствует, что в европейских странах микроспория также стала существенной эпидемиологической проблемой, для решения которой необходимы совместные усилия медицинских и ветеринарных специалистов. В Японии, по данным I. Takahashi (2003), возрастающее значение приобретает зооантропонозная трихофития. Доминирующую роль в этиологии занимает вид *T. mentagrophytes*, который до 1980 г. в этой стране практически не встречался. Его распространение связывают с домашними животными-компаньонами. Трихофития, вызываемая *T. verrucosum*, регистрируется не только среди сельского населения, но и в городах.

Таким образом, БМ во многом обуславливает высокую распространенность дерматофитозов человека и животных; растущую роль в этиологии дерматофитозов людей зоофильных видов грибов; высокий уровень заболеваемости среди детского населения; образование стационарных инфекционных очагов.

Скрытый характер БМ обуславливает трудности, связанные с его выявлением у домашних животных. Животное-миконоситель не имеет видимых клинических проявлений, а экспресс-методы диагностики дерматофитозов (люминесцентный тест) не пригодны для выявления БМ. Обследования животных на наличие БМ могут проводиться лишь в специализированных микологических лабораториях, при условии правильного отбора материала и наличия селективных питательных сред. Проведение подобных анализов в настоящее время возможно лишь при добровольном обращении владельцев животных или по рекомендации ветеринарного специалиста. Однако учитывая крайне низкую осведомленность населения и специалистов в данном вопросе, обследования животных на наличие БМ практически не проводятся. Терапия и профилактика БМ также представляет определенные трудности, которые связаны с нехваткой ветеринарных антифунгальных препаратов в форме шампуней и спреев, а также эффективных и практичных дезинфицирующих средств.

Борьба с БМ является социально значимой задачей, и требует централизованного научно-обоснованного подхода и объединения усилий ветеринарных и медицинских служб. Приоритетными задачами в этом направлении являются создание механизмов массового микологического обследования домашних животных на наличие БМ, и прежде всего при проведении выставок животных, при их продаже, разведении, перевозках и т.д.; расширение сети специализированных ветеринарных микологических лабораторий; усиление ветеринарного надзора при импорте и экспорте животных, при межрегиональных перевозках; повышение санитарно-гигиенической грамотности населения; научное изучение проблемы БМ, поиск оптимальных методов его диагностики, терапии и профилактики, выявление эпидемиологических связей при дерматофитозах человека и животных.

## ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИКОЗОВ ЛОШАДЕЙ

**Муковоз В.Н., Мазур Т.В., Нестеренко Т.Г., Дудник Н.В.**

*Национальный аграрный университет*

*ООО «Алтекс»*

*ЗАО НПАП «Новогалещинская биофабрика»*

*Киев*

*Украина*

Дерматомикозы относятся к группе антропозоонозов и представляют социальную опасность вследствие высокой контагиозности для человека и животных.

Целью и задачами нашего исследования было изучение полевых изолятов дерматофитов, циркулирующих на территории Украины и разработка новых высокотехнологичных и эффективных иммунобиологических препаратов для специфической профилактики дерматомикозов лошадей.

В нашей работе были использованы изоляты дерматофитов выделенные из патологического материала от лошадей. Биологические свойства изучали по общепринятой схеме.

В результате исследования выделенных изолятов было установлено, что *T. equinum* имел ровные, ветвящиеся, септированные гифы. Микроконидии продолговатые, палочкообразной, овальной формы, многочисленные. Встречались макроконидии с 3-5 перегородками. В отличие от него *M. canis* имел огромное количество микроконидий круглой, овальной, редко – грушеобразной формы. Встречались макроконидии веретенообразной формы с 6 – 12 перегородками.

При высеве патологического материала на сусло – агар и культивировании при температуре 27°C и pH среды 5.5, на 15 день рост культуры *T. equinum* отмечали в виде белых иногда с кремовым оттенком, бархатистых, плоских колоний с равными краями. Центр колонии слегка западал в виде не глубокого кратера. Обратная сторона колонии от светло – коричневого до светло – оранжевого цвета. Рост отмечается на 2-4 сутки культивирования.

*M. canis* на 15 день после посева и того же режима культивирования сформировал плоские немного выпуклые колонии с пуговицей в центре, бархатистые, белого, немного бежевого цвета, с лучистым растущим краем. Обратная сторона колонии имела желтый цвет. Рост отмечается на 2-4 сутки культивирования.

При заражении кроликов возбудителями *M. canis* и *T. equinum* заражающая доза составляла  $2.5 \times 10^6$  микроконидий и вызывала гиперемию, шелу-

шение эпидермиса, образования папул, везикул, корочек. У лабораторных животных признаки поражения наблюдались 30-40 суток, микотический очаг был ярко выражен на 15 – 25 сутки после заражения.

Таким образом, изученные биологические свойства выделенных вариантов возбудителя дерматомикозов лошадей позволяет в дальнейшем определить антигенный профиль циркулирующих изолятов для разработки специфических методов профилактики заболеваний.

## **ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИКОЗОВ ЛОШАДЕЙ**

*Муковоз В.Н., Мазур Т.В., Нестеренко Т.Г., Дудник Н.В.*

*Национальный аграрный университет*

*ООО «Алтекс»*

*ЗАО НПАП «Новогалезинская биофабрика»*

*Киев*

*Украина*

Дерматомикозы относятся к группе антропозоонозов и представляют социальную опасность вследствие высокой контагиозности для человека и животных.

Целью и задачами нашего исследования было изучение полевых изолятов дерматофитов, циркулирующих на территории Украины и разработка новых высокотехнологичных и эффективных иммунобиологических препаратов для специфической профилактики дерматомикозов лошадей.

В нашей работе были использованы изоляты дерматофитов выделенные из патологического материала от лошадей. Биологические свойства изучали по общепринятой схеме.

В результате исследования выделенных изолятов было установлено, что *T. equinum* имел ровные, ветвящиеся, септированные гифы. Микроконидии продолговатые, палочкообразной, овальной формы, многочисленные. Встречались макроконидии с 3-5 перегородками. В отличие от него *M. canis* имел огромное количество микроконидий круглой, овальной, редко – грушеобразной формы. Встречались макроконидии веретенообразной формы с 6-12 перегородками.

При высеве патологического материала на сусло – агар и культивировании при температуре 27°C и pH среды 5.5, на 15 день рост культуры *T. equinum* отмечали в виде белых иногда с кремовым оттенком, бархатистых, плоских колоний с равными краями. Центр колонии слегка западал в виде не глубокого кратера. Обратная сторона колонии от светло – коричневого до светло – оранжевого цвета. Рост отмечается на 2- 4 сутки культивирования.

*M. canis* на 15 день после посева и того же режима культивирования сформировал плоские немного выпуклые колонии с пуговицей в центре, бархатистые, белого, немного бежевого цвета, с лучистым растущим краем. Обратная сторона колонии имела желтый цвет. Рост отмечается на 2-4 сутки культивирования.

При заражении кроликов возбудителями *M. canis* и *T. equinum* заражающая доза составляла  $2.5 \times 10^6$  микроканий и вызывала гиперемию, шелушение эпидермиса, образования папул, везикул, корочек. У лабораторных животных признаки поражения наблюдались 30 – 40 суток, микотический очаг был ярко выражен на 15-25 сутки после заражения.

Таким образом, изученные биологические свойства выделенных вариантов возбудителя дерматомикозов лошадей позволяет в дальнейшем определить антигенный профиль циркулирующих изолятов для разработки специфических методов профилактики заболеваний.

## МИКОЗЫ РЕПТИЛИЙ

*Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Гайнуллина А.Г.,  
Макарова Е.Ю., Панин А.Н.*

*ФГУ ВГНКИ  
Москва*

Микотические заболевания рептилий в последние годы приобретают все большее значение в ветеринарной практике. Это связано с растущей популярностью содержания экзотических животных (ящериц, змей, черепах) в домашних условиях, однако создание оптимальных параметров для жизнедеятельности рептилий представляет существенные трудности для неподготовленных владельцев.

В большинстве случаев экзотические животные ввозятся из-за рубежа и могут являться носителями патогенных грибов, в т.ч. несвойственных нашей климатической зоне (например, *Chrysosporium spp.*) При отсутствии надлежащего ветеринарного контроля и карантинирования ввозимых животных велика вероятность развития микоза у животного-носителя и дальнейшего распространения инфекционного агента.

Анатомические, физиологические и поведенческие особенности рептилий косвенно способствуют возникновению у них микотических заболеваний. Условия, поддерживаемые в террариумах, благоприятны для жизнедеятельности сапротрофных мицелиальных и дрожжевых грибов. При этом даже незначительные изменения в микроклимате террариума (температурный и влажностный режимы, вентиляция, освещение) способны привести к резкому увеличению численности сапротрофной микобиоты. Постоянный контакт животного с пропагулами грибов создает предпосылки для колонизации кожного покрова и последующей инвазии в ткани (Е. Jacobson, 1980).

Входными воротами для возбудителей микозов как правило являются травматические нарушения кожного покрова. В силу физиологических особенностей рептилий, кожные травмы у них заживают существенно дольше, нежели у млекопитающих. Животные могут травмировать кожу об острые части террариума и оборудования, в процессе драк между особями, содержащимися в одном террариуме. У ящериц грибы могут инфицировать организм через раневую поверхность при автотомии хвоста (D. Mader, 2002). К возникновению микозов предрасполагает линька – фрагменты старой отмершей кожи часто колонизированы грибами, которые могут впоследствии инфицировать живые кожные ткани.

Чаще всего микозы у рептилий протекают с поражением покровных тканей. Клинически поверхностные микозы у рептилий могут проявляться в форме шелушения, отторжения кожных чешуй; в форме гиперкератоза; в форме некротических очагов; в виде участков депигментации (измененной окраски) кожи; протекать с образованием гранулем, везикул, абсцессов и т.д. Однако инфекционный процесс без своевременного лечения может захватывать глубокие ткани и внутренние органы. При этом клинически заболевание может проявляться лишь как незначительные кожные поражения.

В качестве этиологических агентов микозов рептилий в большинстве случаев выступают убиквитные виды грибов, широко распространенные во внешней среде (J. Pare et al., 1997). В условиях террариума они обитают в подстилочном субстрате, на предметах оборудования и декора, в емкостях с водой, на остатках пищи и т.д. Как правило, это сапротрофные грибы, не способные вызывать инфекционный процесс у животного с нормальным физическим и иммунным статусом, однако проявляющие патогенные свойства при снижении резистентности организма.

Наиболее распространенные микозы млекопитающих – дерматофитозы – у рептилий практически никогда не диагностируются. Исключение составляют почвенные виды дерматофитов (в частности, *Trichophyton terrestre*), выступающие в качестве оппортунистических патогенов. Особенно часто дерматомикозы, вызываемые геофильными дерматофитами, диагностируются у змей и локализуются на вентральной поверхности тела. Очевидно, это связано с постоянным контактом животного с подстилочным субстратом (грунтом) террариума.

Кератинофильные грибы рода *Chrysosporium*, таксономически и физиологически близкие дерматофитам, способны вызывать как поверхностные, так и глубокие микозы рептилий. Почвенный актиномицет *Dermatophylus congolensis*, известный как возбудитель кожных поражений млекопитающих, способен также инфицировать рептилий. Необходимым условием для развития заболевания является нарушение целостности кожного покрова.

При постановке диагноза решающее значение имеет полный микологический анализ патологического материала. Обычно отбор патматериала из поверхностных поражений не составляет трудностей, однако в ряде случаев возникает необходимость прибегать к анестезии животного (для взятия

биоцптата, при отборе аспирата из абсцессов и везикул, и т.д.) Подобные манипуляции являются для животных существенным стрессом.

При выделении гриба из патматериала большие трудности представляет интерпретация его клинической роли – выделенный гриб может быть контаминантом кожного покрова, вторичным патогеном или же первичным этиологическим агентом. Как правило, критерием для утверждения патогенной роли гриба служит обнаружение в патматериале вегетирующих грибных элементов с параллельным выделением нескольких (не менее 3-х) однокотипных изолятов гриба на питательных средах.

Терапия микозов рептилий базируется на применении специфических антифунгальных препаратов. Учитывая широкий видовой спектр возможных возбудителей, выбор препарата должен основываться на результатах определения чувствительности *in vitro* конкретного выделенного изолята гриба.

Для лечения поверхностных локализованных поражений как правило достаточно местного применения антифунгальных кремов, растворов. Однако необходимо учитывать, что поверхностные поражения могут являться лишь видимым проявлением глубокого микоза, требующего системного лечения (J. Pate et al., 1997). Дозировка препарата и длительность курса должны рассчитываться предельно точно, особенно учитывая гепатотоксические свойства некоторых антимикотиков. Литературные данные по эффективности и дозировке фармпрепаратов при терапии микозов рептилий очень ограничены и основаны на отдельных клинических случаях (D. Mader, 2002), что существенно осложняет задачу ветеринарных специалистов. Наряду с лечением животного, необходимо принять меры к снижению грибной обсемененности в среде его обитания, оптимизировать освещенность, вентиляцию, уровень температуры и влажности.

В практике отдела ветеринарной микологии ФГУ ВГНКИ в последние 3-5 лет отмечено увеличение обращений по поводу кожных поражений рептилий. Наблюдавшиеся животные были представлены различными систематическими группами – игуаны, гекконы, хамелеоны, агамы, вараны, сцинки, питоны, удавы, сухопутные и водяные черепахи. Клинически поражения проявлялись в форме очагов измененной пигментации кожи коричневого или черного цвета, в форме некротических очагов, в форме поражений с отслоением кожных чешуй. У ящериц неоднократно наблюдали «сухой некроз» пальцев – отмирание тканей первых фаланг вплоть до их отделения. В некоторых случаях были *post mortem* диагностированы глубокие микозы при микологическом анализе внутренних органов от павших животных.

Микозы были диагностированы у 85% животных (n=27) с различными проявлениями кожных поражений. Видовой состав был представлен в основном недерматофитными гифомицетами родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Scopulariopsis*, *Humicola*, *Chrysosporium*; дрожжевыми грибами родов *Candida*, *Trichosporon*. В некоторых случаях

были выделены ассоциации 2-х видов грибов. Дерматофиты ни в одном случае изолированы не были.

У всех клинических изолятов грибов определяли чувствительность к антифунгальным препаратам. При этом почти все виды проявили устойчивость к флуконазолу, однако в отношении других антимикотиков (амфотерицин В, нистатин, клотримазол, кетоконазол, тербинафин) чувствительность грибов существенно варьировала, что свидетельствует о необходимости определения оптимального для терапии препарата в каждом конкретном случае.

Большинство авторов связывает патогенный потенциал недерматофитных грибов с наличием у них протеолитических ферментов, обуславливающих внедрение гриба в покровные ткани животного. В наших исследованиях большинство выделенных от рептилий изолятов проявили желатиназную активность, а грибы *Alternaria alternata*, *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Humicola spp.*, *Fusarium moniliforme* – также и кератиназную активность в тесте перфорации волос.

Можно прогнозировать, что в ближайшее время значение микозов рептилий в ветеринарной медицине мелких домашних животных значительно возрастет. Это обусловлено растущим интересом к экзотическим животным, сложностями содержания рептилий в домашних условиях, дефицитом специалистов в области ветеринарии холоднокровных животных. Большую роль в распространении микозов играет недостаточный ветеринарный контроль при транспортировке и продаже экзотических животных, в первую очередь ввозимых из-за рубежа. В силу этого вместе с рептилиями распространяются и возбудители микозов, в т.ч. эндемичные виды грибов. Своевременное выявление и терапия микозов рептилий требуют высокой квалификации как врачей-клиницистов, так и специалистов ветеринарных микологических лабораторий.

## ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ МИКОЗЫ ЖИВОТНЫХ

*Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Макарова Е.Ю.,  
Гайнулина А.Г., Панин А.Н.  
ФГУ ВГНКИ  
Москва*

В последние 2-3 десятилетия как в медицинской, так и в ветеринарной микологической практике возрастающее значение приобретают микозы, вызываемые «нетипичными» возбудителями – грибами, чьи патогенные свойства были ранее неизвестны. Как правило, грибы этой группы способны вызывать инфекционный процесс только в условиях ослабленной резистентности организма, в силу чего вызываемые ими заболевания получили общее обозначение «оппортунистические микозы» (ОМ) (N. Singh, 2001).

Потенциально патогенные грибы, способные вызвать оппортунистические микозы, практически повсеместно распространены во внешней среде

– в почве, на органических остатках, в воздухе, и способны адаптироваться к самым разнообразным биотопам. Кожный покров и слизистые оболочки животных также могут быть колонизированы различными видами потенциально патогенных грибов, однако в норме барьерные функции организма препятствуют инвазии грибов в ткани.

В большинстве случаев оппортунистические микозы развиваются как вторичное заболевание на фоне первичных патологий различной этиологии (эндокринной, инфекционной, аллергической или другой). Вместе с тем в современных условиях на домашних животных влияет целый ряд прямых и косвенных факторов, способствующих снижению естественной резистентности организма и предрасполагающих к возникновению оппортунистических микозов. В этом аспекте играют роль климатические условия (теплый и влажный климат, благоприятный для жизнедеятельности грибов), экологические (загрязнение окружающей среды, в т.ч. воды и кормов, токсичными веществами, тяжелыми металлами и т.д.), социально-экономические (межрегиональная миграция населения, высокая плотность населения, снижение уровня жизни) и другие факторы.

Прямое влияние на рост оппортунистических микозов оказывает массированное (и не всегда оправданное) применение антибиотиков в ветеринарии, что приводит к нарушению баланса в естественной микрофлоре организма животных. Этому же способствует бесконтрольное использование зоошампуней и других гигиенических средств, способствующих нарушению барьерной функции кожи. Усилия селекционеров и заводчиков привели к созданию пород животных с изначальной дисфункцией иммунной системы, которая не в состоянии самостоятельно справляться с болезнетворными агентами (Ю. Федоров, О. Верховский, 1996). Все эти факторы привели к тому, что в последние десятилетия проблема оппортунистических микозов в ветеринарной практике существенно обострилась. Вместе с тем информированность практикующих ветеринарных специалистов по этой проблеме остается на низком уровне.

Оппортунистические микозы регистрируются у большинства видов домашних животных – кошек, собак, грызунов, пушных зверей, а также у лошадей и сельскохозяйственных животных, т.е. эти заболевания не характеризуются выраженной видоспецифичностью.

В качестве этиологических агентов оппортунистических микозов могут выступать грибы из различных систематических групп: недерматофитные гифомицеты («плесневые грибы»), дрожжевые грибы, а также актиномицеты. Среди недерматофитных грибов (НДГ) наибольшее клиническое значение имеют темно-окрашенные грибы (феогифомицеты) родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Doratomyces*, *Ulocladium*, *Humicola* и др., характеризующиеся наличием темного пигмента меланина. Также в качестве оппортунистических патогенов могут выступать НДГ, обладающие кератинолитической активностью, в частности представители родов *Scopulariopsis*, *Acremonium*,

*Fusarium*, *Aspergillus* (M. Ali-Stayeh et al., 2000). Однако наличие кератиноз не является однозначным показателем патогенного потенциала гриба.

Среди дрожжей наибольшее клиническое значение в ветеринарии имеют, очевидно, липофильные грибы рода *Malassezia*. Они являются представителями нормальной микобиоты кожного покрова многих видов теплокровных животных, однако при соответствующих условиях способны вызывать инфекционный процесс (A. Foster, C. Foil, 2003). Клиническое значение имеют также дрожжевые грибы родов *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Candida*, *Rhodotorula* и др. Нередко оппортунистический микоз обуславливается не одним видом, а ассоциацией нескольких видов мицелиальных или дрожжевых грибов. В целом к настоящему времени патогенные свойства обнаружены у более чем 300 видов грибов (G. de Hoog et al., 2000).

Клинические формы ОМ, наиболее часто встречающиеся в ветеринарной практике, можно разделить на две группы – кожные поражения (дерматомикозы) и поражения слухового канала (отомикозы). Реже встречаются заболевания носоглотки, глаз, когтей, внутренних органов, поражения пищеварительной и мочеполовой систем (M. Chengappa et al., 1984).

При кожной локализации ОМ клиническая картина может напоминать дерматофитоз и характеризоваться четко очерченными обезвоженными очагами с выраженными воспалительными явлениями, образованием корочек и струпьев. В других случаях клиника может носить стертый характер – поражения не имеют четких границ, могут локализоваться на различных участках тела, занимая большую площадь, и не сопровождаться выраженными воспалительными явлениями. Например, кожное поражение может выглядеть, как участок с разреженным шерстным покровом.

Отомикозы клинически проявляются как правило в форме острых или хронических отитов, сопровождающихся зудом, обильным выделением ушного секрета, стенозом ушного канала. Возбудителями отомикозов чаще всего являются дрожжевые грибы рода *Malassezia*, однако дрожжевые грибы других родов и грибы-недерматофиты также играют роль в этиологии ушных инфекций (F. Bernardo et al., 1998).

Диагностика оппортунистических микозов существенно отличается от таковой при «классических» микозах, в частности дерматофитозах, и не имеет строгого общепринятого алгоритма (A. Gupta et al., 2001). Рутинные микологические тесты – люминесценция в лучах Вуда, обнаружение артроспор при микроскопии – не позволяют выявлять оппортунистические микозы. Особенности диагностики ОМ касаются отбора и транспортировки патматериала для микологического исследования, микроскопии и культурального анализа, интерпретации полученных результатов.

Основные диагностические трудности связаны с обнаружением тканевых форм грибов-оппортунистов в патматериале и с интерпретацией клинической роли изолятов, выделенных на питательных средах. Так, при *Malassezia*-инфекциях диагностическое значение имеет количественный учет дрожжевых клеток в исследуемом образце. При выделении

«плесневых» мицелиальных грибов необходимо учитывать, что они могут являться аэрогенными контаминантами или комменсалами кожного покрова. Адекватность результатов диагностики зависит от способа отбора патологического материала, методики микроскопического исследования, подбора питательных сред и подготовки образцов для культурального анализа, правильности идентификации выделенных изолятов. На всех этапах исследования большое значение имеет опыт и квалификация миколога-исследователя.

В терапии оппортунистических микозов, также как и в их диагностике, нет определенных общепринятых алгоритмов. В некоторых случаях был отмечен положительный эффект от применения живых противодерматофитозных вакцин, однако их действие не специфично по отношению к оппортунистическим патогенам, и носит скорее общестимулирующий характер. Наиболее адекватным средством терапии ОМ являются антифунгальные фармакологические препараты, однако для оптимальной терапии необходимо определение чувствительности выделенной культуры к антимикотикам в каждом конкретном случае. Положительный эффект при терапии ОМ оказывает применение неспецифических иммуностимуляторов.

Обобщая вышесказанное можно заключить, что оппортунистические микозы могут быть вызваны самым широким спектром НДГ, дрожжей и актиномицетов. Современные условия, оказывающие негативное влияние на иммунный и физический статус домашних животных, способствуют дальнейшему росту этих заболеваний. Клинические проявления ОМ могут варьировать в широких пределах, однако наибольшее значение в ветеринарной практике имеют кожные формы (дерматомикозы) и поражения слухового канала (отомикозы). Диагностика ОМ базируется на комплексном микологическом исследовании, имеет существенные особенности и ее результаты во многом зависят от опыта и квалификации персонала лаборатории. При выборе препарата для этиотропной терапии ОМ необходимо проводить индивидуальное определение чувствительности культуры возбудителя к антифунгальным препаратам. Успех терапии также зависит от выявления и устранения факторов, которые привели к снижению защитных сил организма животного.

В настоящее время оппортунистические микозы рассматриваются Международным обществом медицинских и ветеринарных микологов (ISHAM) как «микозы возрастающей значимости», и требуют дальнейшего всестороннего изучения.

## ОЗДОРОВЛЕНИЕ ФЕРМЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ОТ ТРИХОФИТИИ

*Саркисов К.А.  
ВГНКИ*

С начала 70-х годов XX века в хозяйствах Советского Союза для профилактики и терапии трихофитии у крупного рогатого скота стали успешно применять живую лиофилизированную вакцину ЛТФ-130. Благодаря иммунизации животных этого вида с клиникой трихофитии терапевтическими, а остальных животных – профилактическими дозами этого биопрепарата, количество неблагополучных пунктов и животных с клиникой этой инфекции, согласно статистических данных Главного управления ветеринарии МСХ СССР, снизилось с 70% в начале 60-х гг. от всех животных этого вида с клиникой различных инфекций до 0,5% к 1982 году. Этот показатель был получен благодаря большому выпуску вакцины ЛТФ-130 на нескольких биопредприятиях страны (свыше 100 млн доз ежегодно вместе с отправкой на экспорт в другие страны), а также при своевременной профилактической иммунизации этим биопрепаратом нарождающегося поголовья телят до 4-х месячного возраста. Этот показатель заболеваемости по количеству крупного рогатого скота с клиникой трихофитии в последующие годы не изменялся. С начала 90-х годов XX века в связи с экономическими трудностями, в хозяйствах наблюдалась запоздалая профилактическая иммунизация телят вакциной ЛТФ-130, в результате чего увеличилось число животных этого вида с клиникой трихофитии. В результате у некоторых руководителей хозяйств ко второй половине 90-х годов создалось мнение, что выпускаемые и применяемые производственные серии вакцины ЛТФ-130 создают у иммунизированных животных слабый иммунитет, а также обладает пониженным терапевтическим действием против трихофитии. Таким образом, на вакцину ЛТФ-130 пошли нарекания с мест применения этого биопрепарата.

Мы поставили перед собой цель беспристрастно провести с нашим участием оздоровление хозяйства, в котором имеются телята с клиникой трихофитии, путём применения обычной производственной серии вакцины ЛТФ-130. Для этих целей была выбрана частная ферма «Большое Соколово» Можайского района Московской области (хозяин Можаяев М.М.) с 55 головами крупного рогатого скота различного возраста.

По данным Можаяева М.М., в конце июля 2006 года он приобрёл с племенными целями в одном из неблагополучных по трихофитии хозяйств Можайского района 4 головы нетелей 14 месячного возраста. При клиническом осмотре этих животных при погрузке клинических признаков трихофитии у них обнаружено не было.

Спустя 2 месяца ( во второй декаде сентября 2006 года ) у четырёх привезённых нетелей и трёх нетелей 18 месячного возраста, принадлежащих

ферме «Б.Соколово», были обнаружены клинические признаки трихофитии на голове и шее животных в виде появления серого цвета дерматофитных очагов диаметром до 2 см<sup>2</sup>.

После постановки визуального диагноза было решено провести иммунизацию всего поголовья этих животных ( 14 телят 4-8 месяцев, 19 нетелей 15-23 месячного возраста, два бычка 15 месячного возраста и две коровы 6 лет) терапевтическими дозами вакцины ЛТФ-130 против трихофитии крупного рогатого скота, производственной серии № 570406, изготовленной Ставропольской биофабрикой (в дозе 10 см<sup>3</sup>). Каждый флакон с вакциной ЛТФ-130 ресуспензировался во флаконе стерильного растворителя, изготовленного Ставропольской биофабрикой. Этот биопрепарат вводился животным внутримышечно в область крупа.

Спустя 3 дня, после первого введения вакцины животным, все станки, перегородки и полы на ферме «Б.Соколово» были подвергнуты дезинфекции 4% раствором формальдегида и санитарной обработке помещений фермы, где находились нетеля с клиникой трихофитии.

Спустя 12 дней после первого введения животным вакцины этому же поголовью крупного рогатого скота на ферме ввели внутримышечно в область крупа вторично терапевтическую дозу . ресуспензированной вакцины этой серии. Никаких отклонений от нормального клинического состояния у иммунизированных животных в течение 6 часового наблюдения обнаружено не было.

Через 24 дня после второго введения животным вакцины ЛТФ-130 на ферме «Соколово» ( 27 октября с.г.) у семи нетелей с клиникой трихофитии при комиссионном клиническом осмотре не было обнаружено клинических признаков трихофитии. Места обнаружения дерматофитных очагов (на день первого введения вакцины) заросли новой выросшей шерстью. При микроскопии проб материала, отобранных от этих животных, в поле зрения микроскопа не было обнаружено элементов гриба. У остальных животных, контактирующих с заболевшими и иммунизированных одновременно с этими животными вакциной ЛТФ-130 против трихофитии, также при клиническом осмотре не было обнаружено признаков этой инфекции.

При комиссионном клиническом осмотре поголовья крупного рогатого скота спустя 3 месяца после второй инъекции телятам терапевтической дозы вакцины ЛТФ-130 на этой ферме не было обнаружено телят с клиникой трихофитии.

### **Выводы**

1. При двукратном внутримышечном введении поголовью крупного рогатого скота с клиникой трихофитии терапевтических доз (10 см<sup>3</sup>) вакцины ЛТФ-130 серии № 570406, изготовленной Ставропольской биофабрикой было установлено, что внутримышечное введение этого биопрепарата заболевшим трихофитией нетелям и животным контактирующих с ними, а также проведена одновременно с санитарной обработкой и дезинфекция

помещения фермы «Б. Соколово» 4% раствором формальдегида, способствовали выздоровлению заболевших животных и недопущению заболевания этой инфекцией животных, контактирующих с заболевшими трихофитией нетелями.

2. При микроскопии и высева на пробирки с суслоагаром образцов материала, отобранных от этих животных, был дополнительно подтверждён поставленный визуально при клиническом осмотре животных диагноз на заболевание и выздоровление (спустя 24 дня и 3 месяца после введения заболевшим животным терапевтических доз вакцины ЛТФ-130) нетелей от трихофитии.

3. Этим проведённым опытом было подтверждено, что при своевременном введении заболевшему поголовью крупного рогатого скота терапевтических доз вакцины ЛТФ-130 и проведении санитарной уборки и тщательной дезинфекции мест нахождения этих животных, можно оздоровить это поголовье от трихофитии в кратчайшие сроки.

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ ВАКЦИН

*Скрыпник В.Г.<sup>1</sup>, Ушкалов В.А.<sup>1</sup>, Романько М.Е.<sup>2</sup>*

*1 Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов микроорганизмов, Киев.*

*2 Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины  
УААН, Харьков  
Украина*

В настоящее время оценка показателей качества вакцинных препаратов вообще и противогрибковых препаратов в частности имеет достаточно четкую систему по ряду критериев. Например, оценку вакцин по показателю «безвредность» проводят по критериям вирулентности (токсичности), реактогенности и стерильности исследуемого препарата. При этом с помощью стандартных методик, которые используются в нормативных документах, невозможно определить возможное повреждающее воздействие вакцины на иммунокомпетентные органы вообще и на мембраны иммунокомпетентных клеток в частности, что является существенным недостатком существующей системы контроля биологических препаратов. При определении безвредности вакцин по имеющимся в наше время критериям, к сожалению, невозможно оценить состояние иммунной и прооксидантно-оксидантной системы организма привитых животных.

В то же время известно, что довольно часто введение животным вакцинных препаратов способствует развитию иммуносупрессивного синдрома и в ряде случаев негативно влияет на потенциальную способность клеток организма противостоять воздействию окислителей.

Целью настоящей работы было изучение воздействия на организм животных противогрибковых вакцин ЛТФ-130 и «Триходерм» при помощи изучения динамики биохимических показателей сыворотки крови телят после вакцинации и контрольного заражения.

Для этого было использовано 30 телят возрастом 1-4 месяца. Из них сформировали 3 опытных группы по 10 голов в каждой. Первую группу иммунизировали вакциной ЛТФ-130, вторую – экспериментальной вакциной «Триходерм», третья группа использовалась в качестве контроля. Вакцины использовали согласно наставлений по их применению.

Полученные нами данные представлены в таблице.

Динамика биохимических показателей сыворотки крови телят после вакцинации и контрольного заражения ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

№ группы	ЦИК средней молекулярной массы, мг/мл	Серомукоиды, мг/мл	Активность лизоцима, мкг/мл
1	2	3	4
14 дней после первой вакцинации			
I гр.	0,24±0,02*	0,29±0,02	78,3±2,8*
II гр.	0,26±0,01*	0,27±0,03*	79,5±2,8*
III гр. (контроль)	0,20±0,01	0,38±0,03	53,0±6,0
28 дней после второй вакцинации			
I гр.	0,04±0,00	0,30±0,06*	48,83,8
II гр.	0,04±0,005	0,30±0,002	62,50±1,75*
III гр. (контроль)	0,04±0,00	0,31±0,00	41,0±6,0
2 недели после контрольного заражения			
I гр.	0,05±0,007	0,40±0,0*	59,3±1,8
II гр.	0,07±0,00	0,30±0,002	61,5±2,5
III гр. (контроль)	0,07±0,01	0,35±0,01	59,0±2,0
6 недель после контрольного заражения			
I гр.	0,06±0,005	0,40±0,002	57,3±1,8
II гр.	0,06±0,01	0,30±0,0	62,7±3,8*
III гр. (контроль)	0,06±0,00	0,45±0,001	50,5±3,5

Примечание:

1. I гр. – 1-я группа телят, вакцинированных вакциной ЛТФ-130.
2. II гр. – 2-я группа телят, вакцинированных вакциной «Триходерм»
3. III гр. – контрольная группа телят.
4. \* – разность значений приведенных показателей вероятно при  $p \leq 0,05$  относительно значений соответствующих показателей у контрольных животных.

Данные, представленные в таблице свидетельствуют о том, что после вакцинации в сыворотке крови телят, что были привиты противогрибковыми вакцинами регистрировалось достоверное возрастание уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) средней молекулярной массы и активности лизоцима на 30 и 50% соответственно значений данных показателей в контроле. При этом концентрация серомукоидов в крови животных второй опытной группы была незначительно ниже, чем у животных привитых вакциной ЛТФ-130, что свидетельствует об отсутствии вредных иммуносупрессивных эффектов при использовании препарата «Триходерм» на организм животных.

Через 4 недели после 2-й вакцинации значительных изменений иммунного ответа не регистрировали, за исключением остатка повышенного содержания лизоцима в сыворотке крови телят 2-й опытной группы в среднем на 52,4% относительно контроля.

В дальнейшем, в крови опытных животных, которых подвергали контрольному заражению, тенденции изменений определяемых показателей оставались подобными.

Учитывая то, что иммунные комплексы средней молекулярной массы (Ройт А., Бростофр Дж., Мейл Д. Иммунология. – М.: Мир, 2000) есть активаторами системы комплемента и В-лимфоцитов, определяемые нами увеличение образования ЦИКов и активацию лизоцима можно рассматривать в данном случае, как индукцию гуморального звена иммунитета вследствие вакцинации. При этом необходимо подчеркнуть, что выявленные биологические эффекты применения иммунных препаратов одинаково проявились у животных, вакцинированных вакциной «Триходерм» и ЛТФ-130. Таким образом, обе испытанные вакцины вызвали иммунную перестройку организма животных и не обладали иммуносупрессивными свойствами.

## **ДИНАМИКА ТИТРОВ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ВЕРБЛЮДОВ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ДОЗАМИ ВАКЦИНЫ УШВАК ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ ЖИВОТНЫХ**

*Турсункулов С.А., Саркисов К.А.  
КазНИВИ  
ВГНКИ*

В 2000 году коллективом научных сотрудников КазНИВИ при содействии руководства Департамента ветеринарии МСХ Республики Казахстан (РК) была разработана и после комиссионных испытаний иммуногенной активности и апробации в производственных условиях в 2003 году предложена ветеринарной практике для профилактики и терапии трихофитии у животных (в основном верблюдов) сублимированная поливалентная вакцина Ушвак. Благодаря иммунизации этим биопрепаратом животных разных

видов против трихофитии многие хозяйства в РК были оздоровлены от этой инфекции. Но в некоторых оздоровленных от трихофитии хозяйствах регистрировались спорадические случаи этой инфекции. Особенно это наблюдалось в верблюдоводческих хозяйствах.

Для выяснения причин заболевания верблюдов трихофитией иммунизированных вакциной Ушвак 15 кроликам и 50 верблюжатам до 8-месячного возраста (9 опытных и 9 контрольных групп) вводили внутримышечно с интервалами (10-25 дней) и однократно или двукратно различные профилактические (0,5-1,0 см<sup>3</sup>) и терапевтические (1,0-2,0 см<sup>3</sup>) дозы вакцины Ушвак. Профилактические дозы биопрепарата вводили верблюжатам в благополучных по этой инфекции хозяйствах, а терапевтические – животным с клиникой трихофитии. Одновременно, для подтверждения полученных данных визуальных осмотров, микроскопии и результатов посевов на питательные среды проб патматериала, отобранных от животных с клиникой трихофитии, у этих животных брали кровь для того чтобы полученные сыворотки крови использовать для исследования в полученной сыворотках в иммунологических реакциях (РА, РСК, РДП, РНГА). Пробы крови от животных отбирали, начиная с 5 дня с момента начала испытания, и через каждые 5 дней до 60 дня – срок окончания опыта.

При анализе результатов проведённых исследований было установлено полное соответствие данных клинических осмотров животных, проведённой микроскопии и высева патологического материала, отобранного от верблюдов с клиникой трихофитии, с полученными результатами иммунологических реакций с сыворотками крови, полученными от этих животных в процессе проведения опыта. Так при введении верблюжатам и кроликам профилактических доз вакцины Ушвак наиболее напряжённый иммунитет создавался у опытных групп животных, которым вводили биопрепарат двукратно с интервалом 10-14 дней в дозе

1 см<sup>3</sup>, а наименьший – при введении вакцины однократно или в половинной профилактической дозе (0,5 см<sup>3</sup>). Показатели титров антител в сыворотках крови (полученных из проб крови взятых на 25-30 день у животных после последнего введения биопрепарата) опытной группы, которым вводили вакцину двукратно в дозе 1 см<sup>3</sup>, колебались в пределах 1:320-1:640 в РСК и 1:32 в РДП. В группах, где животным вводили биопрепарат однократно или в половинной дозе, титр агглютининов к этому сроку не повышал 1:160 агглютининов, а преципитинов – 1:8.

У верблюжат с клиникой трихофитии после введения им двукратно с интервалом 14 дней терапевтической дозы 2 см<sup>3</sup> к 25-35 дню после второго введения биопрепарата наблюдалось полное оздоровление от этой инфекции, подтверждённое проведённой микроскопией и данными высевок на пробирках с суслоагаром проб патматериала с дерматомикозных очагов, отобранных от этих животных. В сыворотках крови, полученных от этих животных, к этому же дню титр антител колебался в пределах 1:320-1:640 в РСК и 1:32 в РДП, а в РНГА титр был равен 1:900. Меньшие результаты

получены в опытах, когда клинически больным животным вводили сниженные терапевтические дозы вакцины

(1 см<sup>3</sup>) или они вводились однократно. Выздоровление от трихофитии у этих групп верблюжат регистрировалось только к 60-70 дню после последнего введения вакцины, а некоторым животным терапевтические дозы био-препарата вводили повторно (2см<sup>3</sup> двукратно с интервалом 14 дней). Титры антител в сыворотках крови, полученных от этих животных к 30 дню со дня последнего введения вакцины не регистрировался выше 1:160 агглютининов и 1:8 припитинов, а в РНГА этот показатель был равен 1:300.

Спустя 3 месяца после введения профилактических доз вакцины Ушвак, титр антител в сыворотках крови полученных от кроликов и верблюжат независимо от первоначальной величины доз и интервала введения, резко снижался до 1:40. У верблюжат, которым вводили профилактические дозы (1 см<sup>3</sup>) двукратно с интервалом 14 дней, к этому сроку сохранялся напряжённый иммунитет к экспериментальному заражению этих животных вирулентной культурой рода *Trichophyton*, чего не наблюдалось в других опытных группах верблюжат, иммунизированных половинной (0,5 см<sup>3</sup>) в профилактической дозе вакцины.

### **Заключение**

Двукратное внутримышечное введение с интервалом 10-14 дней верблюдам и кроликам профилактических доз (1 см<sup>3</sup>) вакцины Ушвак создавало у животных напряжённый иммунитет на длительный срок, несмотря на снижение титра антител от 1:640 на 30 день после последнего введения био-препарата до 1:40 – спустя ещё 3 месяца.

Двукратное внутримышечное введение терапевтической дозы (2 см<sup>3</sup>) верблюдам с клиникой трихофитии привело к полному их выздоровлению от этой инфекции, обеспечило активную иммунологическую перестройку организма животных, что проявилось в виде нарастания титра антител до 1:640 через 30 дней после второго введения био-препарата.

## **ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПРИ ДЕРМАТОМИКОЗАХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

*Широких А.А.<sup>1</sup>, Огородников А.Н.<sup>2</sup>*

*1 ГУ Зональный НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого*

*2 Ветеринарный Центр «АКСОН»*

*Киров*

В последние годы выявляется всё больше видов грибов, вызывающих различные поражения кожи и волосяного покрова у домашних животных. Это широко распространенная группа заболеваний среди патологии у собак и кошек. Наблюдается рост не только числа и тяжести грибковых инфекций, но также разнообразие микромицетов, выявляемых в качестве

этиологических агентов. «Современные» возбудители, с которыми сталкивается ветеринарная клиническая микология, это чаще всего не традиционные грибы, а ранее неизвестные в качестве возможных возбудителей организмы из окружающей среды, присутствующие в воздухе, в почве или на органических остатках разного рода. Основная их экологическая роль состоит в разложении органических соединений, но в настоящее время они становятся возбудителями различных заболеваний кожи и волосяного покрова у животных, проживающих в городской среде. Подобные микромицеты хорошо известны фитопатоологам, почвенным микробиологам и экологам. Сапротрофные микромицеты не имеет специфического хозяина. Они способны приживаться как на волосяном покрове животных, так и на коже человека. Некоторые микромицеты являются потенциально опасными аллергенами. Инфицированные собаки и кошки, как синантропные животные, могут представлять опасность и для заражения человека. Поэтому объектом наших исследований явились собаки и кошки, инфицированные потенциально патогенными грибами.

Исследования проводили в ветеринарном центре «Аксон» и лаборатории генетики и биотехнологии НИИСХ Северо-Востока с 2005 по 2006 гг. В течение этого времени было обследовано 32 собаки, 19 пород и 15 кошек различного возраста и пола. Диагноз устанавливали на основании анамнестических данных, результатов клинического обследования и лабораторных исследований. Состав микофлоры определяли методом посева клинического материала на питательный агар Сабуро. Идентификацию микромицетов проводили по морфологическим и культуральным признакам.

Изменения, появляющиеся на коже животных, проявлялись следующим образом: волос тусклый, сухой, легко ломается у основания волосяной луковицы, появляются небольшие участки с выпавшей или прореженной шерстью, на коже появляются мелкие сухие чешуйки. При этом зуд умеренно или слабо выражен.

В результате исследований установлено, что у 90% собак с воспалением кожи и поражением волосяного покрова из клинического материала (шерсть, чешуйки кожи) выделяются потенциально патогенные микромицеты. При микрокопировании образцов наблюдали развитие мицелия и образование конидий непосредственно на волосе вблизи волосяной сумки и чешуйках кожи. Выявленные при посеве микромицеты были идентифицированы как *Alternaria*, *Cladosporium*, *Cladophialophora*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Microsporium*, *Trichophyton*, *Ulocladium*, а также дрожжи – *Candida*, *Cryptococcus*. Наиболее часто из клинического материала высевались *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. candidus*, *Acremonium kiliense*, *Cladosporium herbarum*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium oxysporum*, *Microsporium canis*, *M. gypseum*. Представители рода *Trichophyton*, обнаруживались в клиническом материале сравнительно редко, не более чем у 10% животных. Спектр микофлоры в клиническом материале кошек был существенно уже, чем у собак. Низкое

разнообразие микромицетов у кошек, вероятно, объясняется вылизыванием шерсти животными. Наиболее часто встречались *A. alternata* и различные виды аспергиллов.

Установлено, что в летне-осенний период спектр микрофлоры потенциально патогенных микромицетов на шерсти животных значительно шире, чем зимой. Если летом и осенью преобладали представители фитопатогенных микромицетов (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Acremonium*), то зимой доминирующими становились представители родов *Alternaria* и *Aspergillus*. Во второй половине лета и осенью значительно повышается влажность и грибковая флора, попавший на кожу, в благоприятных условиях (повышенная влажность, тепло) начинает активно развиваться. В зимний период отмечено также и сокращение заболеваемости животных дерматомикозами. Это объясняется тем, что зимой животные меньше времени проводят в окружающей городской среде и реже контактируют между собой.

Основным резервуаром потенциально патогенных микромицетов является почва. Городские почвы, по сравнению с почвами сельской местности, характеризуются более тёплым температурным режимом, нейтральной или щелочной реакцией, повышенным содержанием органического вещества. Поэтому в городских почвах создаются благоприятные условия для развития микромицетов. Отмечается, что в городской среде содержание спор грибов в приземном слое воздуха может быть выше, чем в почве и составляет 60-80% от их общего числа в различные сезоны года (Марфенина, 2005). Максимальное содержание всех потенциально патогенных и аллергенных грибов обнаруживается в почвах средней части придорожных газонов – на расстоянии 5-10 метров от автострады, где часто располагаются пешеходные дорожки.

Таким образом, ухудшение экологической обстановки в городских экосистемах способствует расширению видового состава потенциально патогенных микромицетов, способных являться этиологическими агентами при дерматомикозах домашних животных. Существенный вклад в рост заболеваемости животных вносит и снижение иммунитета, обусловленное загрязнением городской среды.

## **Глава 9**

---

# **ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

## ЗНАЧЕНИЕ МИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСКУРСИЙ В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ

*Куручкин С.А., Медведев А.Г.*

*Тверской государственный университет  
Тверской институт экологии и права*

На современном этапе реформирования системы высшего образования взят курс на повышение качества фундаментальных знаний, максимальную активизацию студентов в учебном процессе, самостоятельное освоение учебного материала. Важным фактором, который определяет учебную активность студента, является познавательный интерес, зависящий от форм и методов обучения.

На наш взгляд, особой формой обучения при изучении ряда медицинских дисциплин (фармакогнозия, токсикологическая химия и др.) могут стать микологические экскурсии, так как на некоторых занятиях именно грибы – являются объектами исследования.

Изучение грибов макромицетов имеет большое практическое значение. Прежде всего, это одна из древнейших групп эукариотных организмов, имеющих высокое биологическое разнообразие и, грибы – это процветающее в эволюционном плане царство организмов.

Кроме того, содержащиеся в грибах вещества, обладают различной биологической активностью. Самый простой пример из учебника по фармакогнозии (Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. М., «Медицина», 2002 г.): спорынья – *Claviceps purpurea Tulasne*, семейство *Clavicipitaceae*, из класса сумчатых грибов *Ascomycetes*. «Алкалоиды спорыньи оказывают влияние не только на мускулатуру матки. Они обладают седативным и гипотензивным свойствами, проявляют адренолитическое действие и применяются при неврозе, спазмах сосудов и других заболеваниях» (стр. 435). В тоже время, в этом же учебнике на стр. 365 отмечено: «Папоротники и хвойные почти не имеют алкалоидоносных видов. В прочих группах организмов: бактериях, водорослях, грибах и лишайниках – алкалоиды вообще неизвестны». В каждом учебнике можно найти небольшие неточности. Поэтому при изучении любого источника, надо подходить с критической точки зрения. Очевиден факт, что даже высококлассные специалисты, имеют некоторые пробелы в базовой микологической подготовке.

В профессиональной подготовке специалистов медицинских, биологических и других специальностей, часто имеются проблемы, связанные с отсутствием представления о роли грибов в биосфере и жизни человека. Иногда, представления о грибах ограничиваются уровнем знаний съедобных и ядовитых шляпочных макромицетов, а в большинстве и того меньше. В то же время из 10000 известных к настоящему времени видов базидиальных грибов более 200 видов обладают терапевтическим действием.

Яркий пример использования грибов в фармакогнозии – чага (черный березовый гриб) – *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., семейство гименохетовые – Нупеночаетасеае, в виде настоя и настойки применяется в качестве неспецифического (симптоматического) средства при неоперабельных злокачественных новообразованиях. Задерживает рост опухоли, улучшает самочувствие, уменьшает потоотделение (влияние агарициновой кислоты). Противораковая активность обнаружена у грибов родов *Agaricus*, *Boletus*, *Coriolus*, *Calvatia*, *Coprinus*, *Hericium*, *Inonotus*, *Paxillus*, *Tricholoma* и многих других.

С большинством этих видов и тех, которые описаны в учебнике, можно познакомиться как раз на экскурсии. Микологические экскурсии не только позволят студентам ближе познакомиться с видовым составом грибов, их особым строением, их местопроизрастанием, но и в дальнейшем окажут неоценимую помощь в рассмотрении роли грибов в жизни человека. Микологические экскурсии имеют большое и образовательное, и воспитательное значение, с их помощью студенты знакомятся с разнообразными биологическими явлениями в мире грибов, обогащаются конкретными представлениями. И следует помнить, что даже наиболее удачные лекции или практические занятия не смогут заменить другие формы обучения, какими являются микологические экскурсии.

## **ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ НА ЦИКЛАХ СЕРТИФИКАЦИОННОГО УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГОВ**

*Чащин А.Ю., Малова И.О.*

*Иркутский государственный медицинский университет*

Кафедра дерматовенерологии ФПК и ППС 2 раза в год проводит циклы сертификационного усовершенствования врачей по утвержденной программе в объеме 144 часов. Каждый цикл включает разделы общей и частной дерматологии и венерологии.

Обязательным разделом подготовки врачей дерматовенерологов является клиническая микология, преподаванию которой отводится 12 часов. Занятия проводят преподаватели, имеющие сертификат врача миколога. Для курсантов читаются лекции по следующим темам:

- Микозы стоп. Патогенез, клиника, лечение.
- Онихомикозы: клиника, диагностика, лечение.
- Современная антимикотическая терапия.

Помимо лекционного курса 6 часов отводится на семинарские занятия, которые проводятся на базе областного микологического центра, где имеется стационар, поликлиническое отделение и лаборатория. В лаборатории

курсанты знакомятся с методиками исследования на грибы, культуральной диагностикой. В стационаре курсанты проводят краткую курацию микологических больных с микозами стоп, онихомикозами, а также детей с микроспорией волосистой части головы и гладкой кожи. На амбулаторном приеме курсанты знакомятся с новыми методами лечения онихомикозов, аппаратной чисткой ногтей, показаниями и противопоказаниями к хирургическому удалению ногтевых пластинок.

После завершения раздела микологии проводится тестовый контроль.

## **ГЛАВА 10**

---

### **ПРИЛОЖЕНИЕ**

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ 4 ВСЕРОССИЙСКОГО  
КОНГРЕССА ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ,  
НЕ ВОШЕДШИХ В 7 И 8 ТОМА СБОРНИКА  
«УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»**

## ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗОВ СТОП У ЛИЦ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА

*Грашкина И.Г., Бакулев А.Л., Грашкин В.А., Мясникова Т.Д.  
ГОУ ВПО Саратовский государственный университет Росздрава  
Саратовский областной кожно-венерологический диспансер*

Грибковое поражение кожи и ее придатков в последние десятилетия приобретают все более эпидемический характер. По данным ВОЗ, частота онихомикоза достигает 18% населения планеты, причем с возрастом этот показатель увеличивается и достигает почти 50% у лиц старшего возраста (Макова Г.Н., 2003). Лечение грибковых инфекций ногтей на современном этапе является актуальнейшей проблемой.

Цель нашего исследования: изучение эффективности препарата Тербизил при лечении онихомикоза у лиц старшего возраста с фоновой патологией.

Под наблюдением находилось 118 больных онихомикозом стоп с множественным поражением ногтевых пластинок, в возрасте от 50 до 70 лет. Мужчин – 68, женщин – 50. Продолжительность заболевания колебалась от года до 10 – 15 лет. У 72 пациентов (61%) выявлена дистально – латеральная, у 46 (39%) – тотально – дистрофическая форма онихомикоза с явлениями паронихий. У 52% больных этой группы констатировано сочетанное поражение кожи стоп и ногтевых пластинок, площадь поражения которых составляла от 50% до 80%. Диагноз был подтвержден микроскопическим исследованием, у 28,8% отмечено сочетание дерматофитов в ассоциации с грибами рода *Candida*. До лечения и в динамике исследовали функциональные пробы печени, коагулограмму, общие анализы крови и мочи, ЭКГ. При анализе фоновой патологии отмечено преобладание болезней сердечно-сосудистой системы у 71,2%, хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта в фазе ремиссии – у 78%, сахарный диабет II типа – у 16,9% больных.

Всем больным назначали системный антимикотик с широким спектром действия Тербизил по 0,25 внутрь 1 раз в сутки. Длительность курса лечения составляла от 3 до 5 месяцев с учетом полного отрастания здоровых ногтевых пластин. Для смазывания кожи и околоногтевых валиков использовали 1% крем. Параллельно все пациенты получали ангиопротекторы, гепатопротекторы, антигистаминные препараты, а для ускорения регенерации и роста ногтевых пластин лазерофорез с актовегином на зону матрикса измененных ногтей. Лечение осуществлялось под строгим контролем биохимических показателей крови, наблюдения терапевта, что позволяло своевременно внести коррекцию в базовое лечение фоновых заболеваний и повысило эффективность специфического лечения. Переносимость лечения была хорошая, побочных явлений и осложнений не отмечено. Критерием эффективности терапии считали полное исчезновение клинических признаков микоза или значительное улучшение при отрицательных результатах микологического исследования, которое проводили через 12, 24, 36 недель. Микологическое

излечение достигнуто у 100% больных, но у 12 пациентов не было отмечено полного отрастания ногтевой пластины на первых пальцах стоп. В связи с этим им дополнительно назначался лазерофорез с актовегином на зону матрикса.

Таким образом, Тербизил является высокоэффективным, современным антимикотическим препаратом системного действия в лечении онихомикоза у лиц старшего возраста, включая состояния, осложненные фоновой патологией. Контроль лечения необходимо проводить в тесном взаимодействии с терапевтом.

## **АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕРМАТОМИКОЗАМИ В ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

*Егизбаев М.К., Султанбекова Г.Б.,  
Касымханова А.А., Чупрына О.Н.*

*Областной дерматовенерологический диспансер  
г. Шымкент, Республика Казахстан*

При сравнительном анализе заболеваемости дерматомикозами в Республике Казахстан и приграничных государствах выявлены различия в структуре заболеваемости в различных регионах. Так, в южных регионах, для которых характерно преобладание сельского населения с традиционным укладом жизни и развитым животноводством, регистрируется высокий уровень заболеваемости трихофитией, в то время как для областей северного и центрального Казахстана, с преобладанием городского населения и развитым промышленным комплексом характерен высокий уровень заболеваемости микроспорией.

Ретроспективный анализ показал, что в течение последних лет в Южном Казахстане отмечен рост заболеваемости дерматомикозами с 13.6 (1999 год) до 52.1 (2005 год) на 100 тыс. населения.

Анализ заболеваемости среди больных, госпитализированных в микологическое отделение Южно-Казахстанского областного дерматовенерологического диспансера за 2005 год показал, что из 1212 больных, 686 (57%) составляют больные с дерматомикозами. Из них 496 (72%) больных – пациенты с трихофитией, причем сельские и городские жители болеют одинаково часто.

При анализе эпидемиологического анамнеза выявлено, что заражение в 57% случаев происходит при контакте с животными; 11% – контакт с больными людьми, по 13% составили посещение бань и спортивных секций.

В связи с реформированием сельского хозяйства в Республике, ростом числа частных фермерских хозяйств, а также ослаблением контроля со

стороны ветеринарной службы, не уделяется должного внимания проведению противоэпидемических мероприятий в очагах грибковой инфекции, не проводится обследование и лечение больных животных как общественного, так и частного секторов. Уровень заболеваемости микозами, общими для людей и животных повышается. Это приводит к росту больных с инфильтративно-нагноительной формой трихофитии. Заражение городских жителей происходит при частом выезде в сельскую местность. В то же время сохраняется высокий уровень заболеваемости поверхностной трихофитией, что обусловлено посещением спортивных секций, частных бань и саун, парикмахерских.

Низкий уровень санитарной грамотности сельского населения, развитая практика отгонного животноводства приводят к поздней обращаемости, что обуславливает в структуре заболеваемости трихофитией преобладание инфильтративно-нагноительных форм над поверхностными.

Из вышесказанного можно сделать заключение, что отмечается тенденция непрерывного роста количества больных с дерматофитиями. Преобладание в структуре заболеваемости трихофитии над микроспорией и инфильтративно-нагноительных форм над поверхностными. В возрастной структуре преобладают пациенты в возрасте с 7 до 14 лет. Рост числа больных обусловлен плохой организацией ветеринарной службы, особенно в сельской местности и недостаточным уровнем санитарно-просветительной работы среди населения по профилактике заразно-кожных заболеваний. Это требует поиска новых методов лечения и профилактики этих заболеваний.

## **ОБ ИНДИКАТОРАХ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ**

*Мартынов А.А., Кубанова А.А.  
ФГУ ЦНИКВИ Росздрава*

В настоящее время в рамках модернизации системы здравоохранения ведется активная работа по достижению основной цели реформы – обеспечение доступности и повышение качества медицинской помощи.

Одним из важных компонентов системы управления качества медико-социальной помощи населению является выработка количественных индикаторов качества медицинской помощи, способных дать объективную оценку структуре, процессу или результату оказания медицинской помощи.

В настоящее время при оценке качества медицинской помощи необходимо перейти от широкого использования экстенсивных показателей. Необходимо более широко внедрять индикаторы качества медицинской помощи.

Существующие в настоящий момент критерии качества не отражают единого подхода к процессу оказания медицинской помощи. Так, например, наиболее важным для пациента является информированность об услугах

и уровне сервиса, для медицинского работника – выполнение стандарта оказания медицинской помощи, для сотрудника страховой компании – стоимость оказания услуг в рамках конкретного медико-экономического стандарта и т.д.

Изучение показателей качества жизни больных с патологией кожи в настоящее время активно внедряется в практику кожно-венерологических диспансеров и является перспективным направлением, поскольку позволяет количественно оценить психоэмоциональное состояние пациента, а также изучить эти показатели в динамике на протяжении достаточно длительного времени (до 6 месяцев).

Разработка концепции качества жизни при хронических неинфекционных заболеваниях, унификация и стандартизация подходов к изучению качества жизни – актуальные научно-практические проблемы, над которыми работают ВОЗ, ряд других международных некоммерческих организаций, периодических изданий, специализирующихся исключительно на вопросах изучения показателей качества жизни. За рубежом оформились самостоятельное научно-практическое направление с собственным предметом и методологией изучения.

В понятие качества жизни входят удовлетворенность условиями жизни, работой, учебой, домашней обстановкой, и многие другие социальные и даже политические компоненты. Однако медицинское понятие качество жизни, естественно, включает, прежде всего, те показатели, которые связаны с состоянием здоровья человека.

К настоящему моменту установлено, что показатели качества жизни больного обладают независимой прогностической ценностью и являются не менее точными критериями определения состояния больного во время лечения, чем показатели оценки общесоматического статуса. В ряде случаев качество жизни, связанное со здоровьем, является критерием оценки эффективности медицинского вмешательства. Применительно к дерматологической практике в настоящее время валидизировано около десятка общих и специальных вопросников для изучения показателей качества жизни, среди которых есть инструменты, специфичные для изучения показателей качества жизни при микозах.

Учитывая, что влияние внешних проявлений кожных болезней («фактора личного дискомфорта (смущения)») на общую самооценку респондентов дерматологических клиник является превалирующим, что подтверждено многочисленными зарубежными и отечественными исследователями, целесообразно использовать показатели качества жизни больных в качестве индикаторов качества медицинской помощи, оказанной непосредственно больному (группа № 2 Индикаторов качества медицинской помощи в системе государственных гарантий и системы их оценки).

В заключении хочется отметить, что работа по созданию индикаторов качества медицинской помощи должна осуществляться параллельно с подготовкой стандартов медицинской помощи. Это позволит создать не только

эффективную систему управления качества медико-социальной помощи населению Российской Федерации, но и обеспечит выполнение программы государственных гарантий в сфере здравоохранения.

## ОТВЕТСТВЕННОЕ САМОЛЕЧЕНИЕ СЕГОДНЯ

*Мартынов А.А., Кубанова А.А.  
ФГУ ЦНИКВИ Росздрава*

В настоящее время внедрение концепции ответственного самолечения в различных странах складывается по-разному и зависит от национальных традиций, наличия врачебного персонала, стоимости медикаментов и размеров выделяемых на них субсидий.

Приказом Минздравсоцразвития России от 13 сентября 2005 г. № 578 утвержден новый Перечень лекарственных средств, отпускаемых без рецепта врача. При использовании препаратов указанного Перечня ответственность за их применение возлагается на самого больного, что является ключевым положением концепции ответственного самолечения. Указанная концепция подразумевает использование потребителем лекарственных средств, имеющихся в свободной продаже, для профилактики и лечения нарушений общего состояния и устранения симптомов заболевания, распознанных самим пациентом. Согласно определению ВОЗ, понятие «самолечение» включает также лечение членов семьи и знакомых.

Понятие «самопомощь» подразумевает те случаи, когда необходимо облегчить свое состояние при тех или иных недомоганиях в момент обострения хронического заболевания до посещения врача, оказание первой медицинской помощи до прибытия врача.

Самопрофилактика заболеваний заключается в принятии населением мер по снижению риска возникновения заболевания, выявлению симптомов заболевания на самой ранней стадии в целях предотвращения развития болезни или для более легкого ее течения; мероприятиях по предупреждению рецидивов заболевания, улучшению качества жизни больного.

К положительным моментам внедрения данной концепции относятся: экономия времени и средств пациента; уменьшение нагрузки на лечебно-профилактическое учреждение и врачей; экономия бюджетных средств; активное внедрение в практику аптечных учреждений фармацевтической опеки; активное участие врачей и провизоров в формировании номенклатуры безрецептурных препаратов. Отрицательные моменты сводятся к опасности несвоевременного обращения к врачу и, как следствие, – высокому риску осложнений заболеваний, высокому риску развития побочных эффектов в результате неправильного применения лекарств.

При отдельных микозах кожи также возможно самостоятельное использование больными лекарственных средств, отпускаемых без рецепта врача (например, поверхностные микозы, грибковое поражение стоп).

Вышеуказанный Перечень включает 4 отдельные группы (монопрепараты; комбинированные препараты, медицинские и иммунобиологические препараты, гомеопатические лекарственные средства), в каждой из которых содержатся препараты для лечения тех или иных заболеваний кожи. Лекарственные средства, используемые при ведении больных грибковыми заболеваниями, встречаются только в первой и второй группах.

Среди монопрепаратов Перечня, общее число которых достигает 164, лекарственных средств, используемых в практике врача-дерматовенеролога, около 62 наименований. Из них лекарственных средств с противогрибковой активностью 11 (6,7 % от общего числа лекарственных средств группы), в том числе: аморолфин, бифоназол, кетоконазол, клотримазол, миконазол, тербинафин, флуконазол, эконазол и др.

В группу комбинированных препаратов Перечня лекарственных средств с противогрибковой активностью включено значительно меньше наименований – 7 (1,3 % от общего числа лекарственных средств группы).

Таким образом, первый шаг на пути внедрения концепции ответственного самолечения в Российской Федерации сделан. Дальнейшая проработка вопросов ответственного самолечения заключается в подготовке методических документов по осуществлению ответственного самолечения больными при различных заболеваниях, созданию системы регистрации побочных эффектов для лекарственных средств, отпускаемых без рецепта, а также комплексных программ по взаимодействию провизора и больного в течение всего периода лекарственной терапии, единой информационной системы. Лечащие врачи в свою очередь должны научить своих пациентов решать несложные и часто повторяемые проблемы, связанные с их здоровьем, самостоятельно. При этом пациентам необходимо объяснить, что в рамках концепции ответственного самолечения, первый совет по использованию лекарственного средства должен всегда исходить от врача.

## **КРИТЕРИИ ВЫБОРА АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

*Новосёлов В.С., Новосёлов А.В.  
Московская медицинская академия*

В последнее время фармацевтический рынок оказался пресыщен антимикотическими препаратами. Достаточно открыть наиболее распространённые в среде врачей справочники (Видаль, РЛС), чтобы убедиться, что количество коммерческих названий пяти основных антимикотических препаратов скоро преодолет отметку в 50 наименований.

Для того, чтобы разобраться во всём этом многообразии лекарственных средств в поиске наилучшего препарата, мы сформировали определённый алгоритм действий. Согласно этому алгоритму, чтобы сделать безошибочный

выбор необходимо занять позицию пациента, понять, что его интересует и беспокоит.

Итак:

1. Эффективность,
2. Безопасность,
3. Быстрота,
4. Удобство,
5. Комфорт,
6. Дешевизна,
7. Совместимость.

Теперь более подробно:

1. Наибольшая эффективность достигается приёмом антимикотиков оригинального происхождения. Это объясняется тем, что дженерики производятся путём очистки формулы оригинального препарата от сурфактантов, вследствие чего утрачивается и часть активного антимикотического компонента.

2. Наиболее безопасны именно дженерики (вследствие очистки), но поскольку оригиналы предпочтительнее по соображениям эффективности, подбор терапии целесообразно делать, выбирая из оригинальных препаратов.

3. Быстро вылечить микотическое поражение кожи, а тем более ногтей – почти невозможно. Единственное, на что можно рассчитывать – это быстрое накопление активного компонента в кератиноцитах, где он будет действовать и после окончания приёма медикамента. Поэтому, исходя из вышесказанного, необходимо подбирать препарат, который при приёме в течение минимального количества времени будет как можно дольше оказывать терапевтическое действие на организм после прекращения терапии.

4. Удобство применения заключается в частоте и количестве приёма препарата в сутки. Чем реже приём и меньше количество используемого препарата – тем, разумеется, лучше.

5. Комфорт при приёме препарата складывается из многообразия лекарственных форм, благодаря которому пациент имеет возможность варьировать тактику терапии в процессе лечения согласно собственному жизненному ритму.

6. Любое лечение требует финансовых затрат. Стоимость лечения – одна из основных проблем микологии. Расходы на полноценную и качественную терапию исчисляются сотнями долларов. А рассчитать стоимость лечения не так сложно. Достаточно вычислить, какое количество упаковок препарата будет использовано в процессе терапии, рассчитать среднюю стоимость лечения, исходя из стоимости одной упаковки препарата, и сопоставить данные с информацией о других медикаментах. В качестве вспомогательного материала можно использовать интернет-ресурс [www.medlux.ru](http://www.medlux.ru).

7. Наконец, пациента могут беспокоить не только микологические проблемы, вследствие чего необходимо, чтобы препарат взаимодействовал с наименьшим количеством медикаментов, которые больной уже получает.

Данный алгоритм позволит безошибочно подобрать антимикотический препарат, удовлетворяющий всем потребностям пациента страдающего грибковым процессом.

## **ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ УРОГЕНИТАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ**

*Редькин Ю.В., Одокиенко А.Ю., Редькина В.Ю., Зайкова Э.Ф.*

*ООО «Кабинет профессора Редькина Ю.В.»*

*ГКИБ № 1*

*Омск*

В связи с возрастающей антропогенной трансформацией внешней среды у населения многих стран наблюдается рост частоты различных форм вторичных иммунодефицитов (ВИД). Это коррелирует с учащением заболеваемости оппортунистическими инфекциями (ОПИ), особенно вирусной и грибковой природы. Клинические признаки ОПИ достаточно хорошо известны, но степень и грани полиморфизма клинико-лабораторных показателей до конца не определены. У лиц с ВИД без ВИЧ-инфекции в 60% случаев обнаруживается микст-инфекция, одним из компонентов которой чаще всего является рецидивирующий локальный или системный кандидоз. У пациентов на этом фоне ОПИ часто имеют стертое клиническое течение с многочисленными рецидивами, усугубляющими иммунодефицит. Хронические рецидивирующие инфекционно-воспалительные процессы, сопровождаясь длительной антигенемией, ведут к патологии внутренних органов, к аутоиммунизации и иммунокомплексным реакциям. По нашим данным, особенностью микст-инфекции является последовательная смена активности разных возбудителей, когда один инфект реактивируется, а другой, под влиянием доминирующего лечения, уходит в латенцию.

Оппортунистическая инфекция слизистых, вызванная грибами рода *Candida*, у женщин чаще всего проявляется в форме рецидивирующего вульвовагинита (ВВК) и, как правило, сочетается с вирусами папилломы человека (ВПЧ, 25% случаев), простого герпеса 1 или 2-го типов (ВПГ, 19%). Такая ситуация требует адекватной этиотропной и патогенетической фармакотерапии, сочетающейся с применением средств противовирусного и антифунгального действия. Обязательным условием успеха терапии является также конкретное иммунологическое сопровождение.

Под нашим наблюдением находилось 172 женщины с ВВК в возрасте от 19 до 55 лет. Ранее все пациентки неоднократно получали топическое и системное лечение разными препаратами по поводу ВПГ- и цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ), хламидийной и микоплазменной инфекции, а также по поводу рецидивов вагинального кандидоза. Эмпирически вра-

чами при этом в 30% случаев применялись иммуностимулирующие средства без видимого результата. У 106 (62,6%) женщин ВВК сопровождался различной инфекционно-воспалительной патологией (ВПГ- и ВПЧ-инфекция, миома матки, дисплазия шейки матки I-II степени и т.п.). Клинические проявления инфекции были различными: ВВК отмечался у всех 172 пациенток, цервицит обнаруживался у 58, бактериальный вагинит у 52, бактериальный вагиноз соответственно у 7 женщин. Пациентки жаловались на зуд ( $n=170$ ), жжение ( $n=89$ ) в области половых губ или входа во влагалище, наличие дизурического дискомфорта ( $n=41$ ), на боли внизу живота или в промежности ( $n=48$ ). Верификация ВВК базировалась на клинических симптомах, на полуколичественном микроскопическом анализе влагалищного мазка (обнаружение псевдомоний и почкующихся форм гриба), цитологическом исследовании, а также на обнаружении методом РИФ или ПЦР антигенов возбудителя.

Исследование иммунного статуса выявляло у всех женщин наличие хронического инфекционного синдрома с инверсией иммунного ответа в сторону Th2-звена, повышение доли CD8, CD16 лимфоцитов, антигенактивированных клеток (HLA-DR лимфоцитов), накопление патогенных ЦИК. Кроме того, практически у всех женщин в НСТ-тесте отмечался низкий уровень резерва метаболизма нейтрофилов при дисбалансе содержания сывороточных иммуноглобулинов. У 31-ой женщины обнаруживался дефицит sIgA в вагинальном секрете.

В лечении женщин использовали комбинированную фармакотерапию. Антифунгальная и противовирусная терапия реализовывалась в супрессирующем режиме. В зависимости от лекарственного анамнеза флуконазол (микосист) назначался в капсулах по 50 мг на прием, ежедневно, на протяжении 1-3-х недель. Затем в профилактическом режиме препарат рекомендовался в капсулах по 150 мг на прием однократно в месяц на протяжении 3-6 месяцев. При неоднократном использовании флуконазола у женщин в предыдущее время альтернативным препаратом являлся итраконазол (орунгал, румикоз) в режиме по 100 мг на прием 2 раза в сутки в течение 3-х дней. Затем препарат назначался по 200 мг на приём один раз в месяц на протяжении 3-х месяцев. Всем пациенткам местно (свечи) назначался комбинированный препарат интерферона (Генферон) в режиме одна свеча по 500000 МЕ 2 раза в сутки, 10 дней. Далее препарат использовался в дискретном режиме (1 свеча 2 раза/сутки, 3 раза в неделю на протяжении 2-3-х месяцев). При выявлении вирусной инфекции (ВПГ, ВПЧ, ЦМВ) использовали универсальный противовирусный и иммуномодулирующий российский препарат Панавир (ЗАО «Флора и Фауна, Россия). Препарат вводили внутривенно (0,004% раствор, в ампулах по 5 мл), 1 раз в 3 дня, № 2-3. При выраженном дисбалансе основных иммунорегуляторных клеток (Th1/Th2) применяли двукратное подкожное введение Ронколейкина (по 500000 МЕ; содержимое ампулы предварительно разводили в 2-х мл стерильной воды для инъекций, далее вводили по 1 мл под кожу правой и левой рук, 1 раз

в 3 дня, всего 2 процедуры). При выраженном дефиците фагоцитарных реакций использовали иммуномодулирующий и противовоспалительный препарат Галавит (ЗАО «Медикор», Россия) в виде ректальных свечей по 100 мг, через день, № 10.

Через месяц после начала лечения грибы в мазках не обнаруживались у 95% женщин, что совпадало с результатами РИФ и ПЦР диагностики. Существенно снижался воспалительный синдром, прекращались патологические выделения из половых путей. Через 3 месяца после начала лечения у 4-х пациенток отмечались умеренные выделения слизистого характера, у 2-х женщин возникал рецидив герпетической инфекции слабой степени выраженности.

Таким образом, учитывая субъективную оценку результатов комбинированной терапии и отсутствие жалоб через 3 месяца у большинства обследованных пациенток, данные их физикального исследования и лабораторных показателей, можно констатировать, что полное клиническое выздоровление отмечалось у 95% наблюдаемых нами женщин.

## ИЗМЕНЕНИЕ ОКРАСКИ НОГТЕЙ ГРИБКОВОЙ И НЕГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Степанова Ж.В.**

ГУ «ЦНИКВИ РОСЗДРАВА»

Москва

Изменение цвета ногтей может быть связано с рядом причин: наличие пигмента, выделяемого плесневыми грибами, накопление меланина, гемосидерина, воздействие различных химических соединений, лекарственных средств и др.

Цвет ногтей при плесневом онихомикозе зависит от вида возбудителя. Наиболее часто встречающийся возбудитель *Scopulariopsis brevicaulis* вызывает изменение окраски ногтя в виде беловато-желтых полос в толще его. При поражении грибами рода *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Alternaria* возникает беловато-желтое или серое окрашивание ногтей.

При внедрении в ногтевые пластины грибов рода *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus* изменение цвета ногтей может быть от зеленого до темнокоричневого и черного. При поражении ногтей плесневыми грибами характерным является то, что, как правило, длительное время имеется только изменение окраски ногтя.

При плесневом онихомикозе чаще бывает поражена одна ногтевая пластина на стопе, реже несколько, но наблюдаются случаи множественного поражения на стопах и кистях. Изменение цвета пластины может быть по всей поверхности или частично в виде пятен и полос.

Темная окраска ногтей наблюдается при диабетической гангрене в результате тромбоза артерий, при болезни Аддисона и ряда других причин.

Важно обращать внимание на темно-коричневую и черную окраску ногтей, чтобы не пропустить подногтевую меланому.

Меланома чаще возникает из пигментного или непигментного невуса. Если меланома развивается из невуса, расположенного в области матрицы, то она выглядит в виде продольной полосы коричневого или черно-синего цвета с радиально отходящими отростками. Редко меланома может начинаться в виде абсцесса или язвы.

Под наблюдением автора находился больной М.В.И. (амб. карта № 1519), 1947 г.р., с меланомой в области ногтевого ложа. Болен 1,5 года, когда после травмы появилось изменение ногтя, позже пластина исчезла, и в области ложа образовалось изъязвление с мокнутием и кровоточивостью. При обращении к врачу и лабораторном обследовании якобы находили грибы и было проведено следующее лечение: внутрь орунгал 1 пульс, экифин в течение 3 месяцев, антибактериальные препараты. Улучшения не отмечалось. При осмотре больного на 4 пальце правой кисти ногтевая пластина отсутствовала, в области заднего валика наблюдалась припухлость, ложе в виде эрозированной поверхности с темной полоской по краю. Ногтевые пластины на пальцах стоп не изменены. Больной был осмотрен совместно с профессором А.М. Вавиловым, сделаны мазки-отпечатки для цитологического обследования и дано направление в онкодиспансер, где был подтвержден диагноз подногтевая меланома и рекомендована ампутация пальца.

Представленное наблюдение свидетельствует о том, что длительно существующее изъязвление в области ногтевого ложа, не поддающееся терапии системными антимикотиками и антибактериальными препаратами не вызвало подозрения на малигнизацию процесса.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМНЫХ АНТИМИКОТИКОВ ПРИ МИКРОСПОРИИ

*Степанова Ж.В., Оленич И.А., Климова И.Я.*

*ГУ «ЦНИКВИ Росздрава»*

*Городская клиническая больница № 14 им. В.Г. Короленко  
Москва*

Из дерматомикозов с поражением волосистой части головы первое место занимает микроспория. Для получения терапевтического эффекта при лечении больных с поражением волосистой части головы необходима системная терапия. Местное лечение используется как дополнительное, в том числе и с целью предотвращения распространения заболевания на ранней стадии системного лечения. *In vitro* на грибы рода *Microsporum* действуют 5 антимикотиков системного действия – это гризеофульвин, кетоконазол, флуконазол, итраконазол и тербинафин. Общеизвестно как зарубежными, так и отечественными авторами, что при лечении больных микроспорией наиболее эффективным препаратом является гризеофульвин. В России он

применяется в таблетках по 0,125 г из расчета 21-22 мг на 1 кг массы тела. Продолжительность лечения по разным авторам составляет 4-8, 6-10, 6-12 недель. За рубежом применяется микронизированный гризеофульвин в дозе от 10 до 25 мг на 1 кг массы тела и ультрамикронизированный от 5 до 10 мг на 1 кг. Продолжительность лечения составляет 6-12 недель.

В 80-е годы проводились клинические исследования по оценке эффективности кетоконазола при микозах с поражением волосистой части головы с учетом массы тела. Исследователями было показано, что препарат не эффективен при коротком курсе лечения, а длительное лечение не желательно, учитывая его гепатотоксичность.

В литературе имеются немногочисленные сообщения о назначении флуконазола больным микроспорией в дозе 3-5 мг на 1 кг массы тела в течение 4-х недель с терапевтическим эффектом. Учитывая, что флуконазол является гидрофильным препаратом и в жидких средах его больше, чем в кератине и липидах он не может быть антимикотиком выбора при лечении больных микроспорией.

По данным Канадского педиатрического общества, проводимые клинические исследования по применению итраконазола при лечении микозов с поражением волосистой части головы свидетельствуют об эффективности его при трихофитии и микроспории в дозе 3-5 мг на 1 кг массы тела в течение 4-6 недель. По сообщению Британской ассоциации дерматологов наиболее эффективна суточная доза итраконазола для взрослых 100 мг, а для детей 5 мг на 1 кг массы тела, возможно лечение по методу пульс-терапии, продолжительность лечения 4 недели. Однако число наблюдений недостаточно чтобы рекомендовать его для применения в детской практике.

Что касается тербинафина, то он разрешен для лечения детей в возрасте старше 2 лет. Он эффективен, как и гризеофульвин при лечении больных трихофитией, продолжительность составляет 4 недели (Британская ассоциация дерматологов). Сведения по лечению больных микроспорией разноречивые. Проводимые ранее в Великобритании исследования свидетельствуют о том, что при назначении больших доз, чем указано в инструкции и продолжительности более 4 недель может быть получен терапевтический эффект.

В отделении микологии и микологических отделениях б-цы им. В.Г.Короленко проведена оценка эффективности гризеофульвина и тербинафина при лечении больных микроспорией. Нами были изучены амбулаторные карты 20 больных, получавших гризеофульвин, и 20 больных – тербинафин. Первую группу составили дети в возрасте от 1 года 9 месяцев до 10 лет, 8 мужского пола, 12 – женского. С микроспорией волосистой части головы было 14 человек, в сочетании с поражением гладкой кожи – 5, с распространенной микроспорией гладкой кожи и вовлечением в процесс пушковых волос – 1. Во второй группе были дети в возрасте от 3 до 13 лет, 11 – мужского пола, 9 – женского. С микроспорией волосистой части головы было 11 человек (из них 3 с инфильтративно-нагноительной формой), в

сочетании с гладкой кожей – 6, с распространенной микроспорией гладкой кожи и вовлечением в процесс пушковых волос – 3.

Гризеофульвин в таблетках по 0,125 г больные получали из расчета 21-22 мг на 1 кг массы тела по общепринятой схеме, тербинафин назначали с учетом массы тела в соответствии с инструкцией и прибавляли еще 50%. Продолжительность лечения гризеофульвином до первого отрицательного анализа на грибы при поражении волосистой части головы, в том числе и в сочетании с поражением гладкой кожи составила от 19 до 25 дней, при распространенной микроспории гладкой кожи 14 дней. Общая продолжительность лечения составила от 22 до 35 дней. Побочных эффектов не наблюдали. В группе больных, получавших тербинафин, первый отрицательный анализ на грибы наблюдали через 14, 15 и 25 дней у больных с поражением гладкой кожи, у больных с поражением волосистой части головы и в сочетании с поражением гладкой кожи от 14 дней (больная с инфильтративно-нагноительной формой) до 68 (13 больных). Общая продолжительность лечения составила при микроспории гладкой кожи с поражением пушковых волос 20, 23 и 31 день, при микроспории волосистой части головы и в сочетании с гладкой кожей от 27 до 79 дней. Четверо больных в возрасте 4, 7 и 2-е больных – 8 лет были выписаны из стационара с положительными анализами на грибы через 53, 69 и двое больных – через 84 дня. Побочных эффектов не наблюдали.

Таким образом, по нашим данным лечение больных микроспорией гризеофульвином было менее продолжительным, чем тербинафином, у всех получен терапевтический эффект. Лечение тербинафином удобное для больных, хорошо переносится, однако до настоящего времени дозы не отработаны, увеличение на 50% не дает положительного эффекта у всех больных. Правильнее было бы определять дозу индивидуально для каждого больного.

## **ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА МИКОФЛОРУ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ**

*Топчий М.В., Стародубцева Г.П., Любая С.И.*

*Каф. Психофизиологии и естествознания  
Северокавказского социального института  
Ставрополь*

Из-за загрязнения окружающей среды вследствие применения химических веществ ведется постоянный поиск эффективных биопрепаратов, позволяющих воздействовать на патогенную микофлору, и в то же время занимать нейтральную позицию в биотических связях, обладать экологической чистотой.

В настоящее время известно около 170 биологических агентов, используемых в качестве биофунгицидов. Из них для борьбы с возбудителями болезней рекомендовано всего около 10 бактериальных и грибных препаратов. Практически не исследована их способность ингибировать развитие токсиногенных грибов, заражающих зерно злаковых культур, и накопление в нем микотоксинов.

Нами было проведено сравнительное исследование по определению влияния на микрофлору зерна озимой пшеницы и его токсичность широко используемого в нашем крае био-препарата «Бактофит» и нового биологического препарата «Биофит-1», который представляет собой консорциум микроорганизмов антагонистического действия.

Для эксперимента было отобрано зерно озимой пшеницы, на 100% зараженное патогенной микрофлорой, видовой состав которой был представлен грибами следующих родов: *Alternaria*, *Fusarium*, *Aspergillus* и *Penicillium*.

Микологический анализ необработанного и обработанного зерна проводился через 1 неделю после обработки и через 3 и 6 месяцев хранения (рис.1).

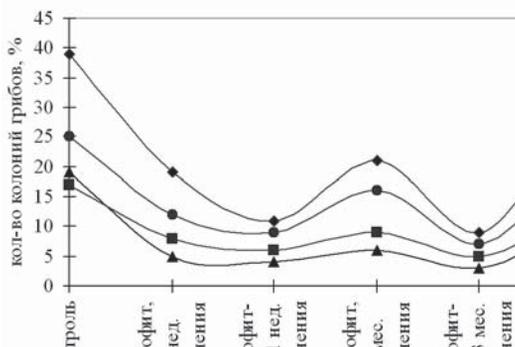


Рис. 1. Влияние биопрепаратов на микрофлору зерна озимой пшеницы, в зависимости от срока хранения.

Пораженность зерна в контроле (без обработки) грибами рода *Fusarium* составила 39,0%, *Aspergillus* – 25,0%, *Alternaria* – 19%, *Penicillium* – 17,0%. После обработки зерна био-препаратом Бактофит с нормой расхода 2 л/т наблюдается снижение степени пораженности фузариями, пенициллами, аспергиллами, в среднем в 3 раза.

Обработка зерна озимой пшеницы Биофитом-1 показала наилучшие результаты, снизив пораженность грибами рода фузариум в 8 раз, альтернарией, пенициллом и аспергиллом в 2-3 раза.

Через 3 месяца хранения (рис. 1), в контрольном образце количественный состав токсиногенных грибов родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium* увеличился на 1,0-8,0%.

В образце, обработанном препаратом Бактофит количество грибов рода *Fusarium* снизилось на 20,0%, *Alternaria* – на 14,0%, *Aspergillus* – на 13,0%, *Penicillium* – на 9,0%.

Результативность препарата Биофит-1 оказалась выше в отношении подавления грибов всех родов. Количество грибов рода *Fusarium* уменьшилось на 28,0%, *Aspergillus* – 16,0%, *Alternaria* – 15,0%, *Penicillium* – 11,0%.

Через 6 месяцев после хранения (рис.1), было выявлено, что рост грибов всех исследуемых родов продолжает активизироваться, настолько, что на некоторых зернах были от-мечены их комплексы.

Применение препарата Бактофит привело к снижению заселенности зерна микрофлорой на 66%, но его действие с увеличением срока хранения начинало ослабевать.

Тогда как, в образце, обработанном препаратом «Биофит-1», угнетение роста грибов всех родов происходило на протяжении всего срока хранения. По-видимому, это объясняется тем, что антагонистические свойства, которыми обладает каждый из компонентов препарата, при взаимодействии усиливаются.

Препарат «Биофит -1» снизил зараженность зерна по сравнению с контролем на 82%, что, по-видимому, объясняется действием микробов-антагонистов из родов *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus subtilis*. Наибольшую чувствительность к препарату имели грибы родов *Aspergillus*, которых стало в 7 раз меньше, *Fusarium* – в 5 раз. Значительно уменьшилось заселенность зерна другими выделенными нами представителями микрофлоры.

Кроме того, после обработки препаратом «Биофит -1» было отмечено его положительное влияние на ряд качественных характеристик зерна озимой пшеницы:

- снижен общий уровень токсичности зерна;
- оказано ростостимулирующее действие на зародыш зерна;
- улучшены структурно-механические свойства теста, изготовленного из обработанного зерна.

Очевидно, что исследуемые биологические препараты достаточно эффективно действуют на патогенную микрофлору. Но самые высокие показатели получены при применении препарата Биофит-1, который не только влияет на патогенную микрофлору, но и снижает общую токсичность зерна озимой пшеницы, что позволяет увеличить сроки хранения и биологическую ценность продукта.

Результаты наших исследований показывают, что использование биопрепаратов для защиты хранящегося зерна озимой пшеницы от поражения токсиногенными грибами и накопления микотоксинов перспективно и требует углубленного изучения. Помимо обеззараживающего эффекта на фуражном зерне использование биопрепаратов имеет особое значение и для обработки семенного материала.

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ

*Тугай Т.И.<sup>1</sup>, Жданова Н.Н.<sup>1</sup>, Желтоножский В.А.<sup>2</sup>,  
Садовников Л.В.<sup>2</sup>, Королева О.В.<sup>3</sup>, Степанова Е.В.<sup>3</sup>*

*1 Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев*

*2 Институт ядерных исследований НАН Украины, Киев*

*3 Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва*

В результате Чернобыльской катастрофы огромные территории, включая объекты находящиеся на них, были подвержены действию постоянного облучения, различной интенсивности. В результате 18-летнего мониторинга микобиоты почв 10-км зоны ЧАЭС, проводимого сотрудниками Института микробиологии и вирусологии НАН Украины, было выделено более 2200 штаммов 220 видов 110 родов микоспоровых грибов. На протяжении 1997-2004 г. было обследовано 49 помещений объекта «Укрытие» из которых были выделены и изолированы культуры грибов, которые были отнесены к 58 видам 25 родов.

У микромицетов, выделенных из территорий 10-км зоны ЧАЭС и внутренних помещений объекта «Укрытие» под воздействием повышенного радиационного фона появились адаптивные свойства, в частности радиотропизм (направленный рост грибов к источникам излучения) и радиостимуляция (активация прорастания конидий и скорости роста, грибных гиф под воздействием значительных доз радиации). Изучение встречаемости этих явлений у микроскопических грибов, при использовании искусственных источников излучения с активностью близкой к активности «горячих» частиц чернобыльского происхождения (105-107 Бк), позволило установить, что 30% изученных штаммов, выделенных из радиоактивных территорий, проявляли свойства и радиотропизма и радиостимуляции. Штаммы этих же видов выделенные из чистых относительно радионуклидов территорий не проявляли свойства радиотропизма, а под влиянием больших доз радиации (до 500 Гр) практически у всех изученных грибов наблюдалось ингибирование ростовых процессов.

У исследуемых штаммов, обладающих радиотропными свойствами, адаптивный ответ наблюдается при дозах облучения на три порядка выше таковых известных в литературе для бактерий и животных клеток и на порядок выше, чем для растительных объектов. Исходя из многоуровневой структурно-функциональной организации биологических систем, необходимо учитывать возможность проявления адаптационного потенциала на молекулярном и клеточном уровне. Для микромицетов существенную роль в проявлении радиорезистентности играют меланиновые пигменты, возможно уровень их антиоксидантной активности вносит вклад в проявление радиоадаптивных свойств.

Было показано, что уровень антиоксидантной активности выделенных нами меланиновых пигменты выше у представителей двух видов грибов *Cladosporium cladosporioides* и *Aspergillus versicolor*, выделенных из радиоактивных территорий и обладающих радиотропными свойствами и двух штаммов этих же видов не обладающих радиотропными свойствами.

## БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ В МИКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*Юцковский А.Д., Долматов И.Ю., Юцковская И.А.*

*Госмедуниверситет*

*Институт биологии моря ДВО РАН*

*Владивосток*

Биологически активные вещества (БАВ) морских организмов, макро- и микроводорослей широко изучаются в различных странах. БАВ, регулирующие различные физиологические процессы на настоящее время вышли из разряда фундаментальных исследований и имеют исключительное значение не только для хозяйственно-промышленной деятельности, но и для медицинского применения. Так, они используются в фармакологии для получения лекарственных препаратов в качестве добавок к пищевым продуктам, как ценные реактивы для научных исследований и др. По результатам исследований Института биологии моря (ИБМ) ДВО РАН из морских беспозвоночных выделено значительное количество фармакологически ценных соединений, обладающих рядом преимуществ по сравнению с веществами, полученными из тканей позвоночных. Одним из основных преимуществ при этом является то, что иммунная система человека менее чувствительна к БАВ морских животных, а следовательно, они медленнее разрушаются и дают более выраженный эффект. Естественно, что особый интерес представляет для медицинских работников поиск и выделение органических соединений, пригодных для использования в практике. Многие природные соединения морского происхождения обладают антимикробной активностью или являются токсинами. Как считают многие исследователи, это связано с тем, что морские организмы чаще, чем наземные, биосинтезируют специальные соединения для защиты от поражения грибами и бактериями, отпугивая хищников, дезактивации жертв. Среди различных БАВ, получаемых из тканей морских беспозвоночных, большое практическое значение имеют соединения, обладающие бактерицидным и фунгицидным действием. Одним из перспективных источников БАВ являются иглокожие, в один из классов которых входят голотурии (морские огурцы). В прибрежных районах Приморского края широко распространены такие виды промысловых голотурий, как дальневосточный трепанг *Strichopus japonicus* (*S.j.*) и эупентакта фраздатрикс *Eupentacta fraudatrix* (*E.f.*). Из

дальневосточного трепанга исследователями ИБМ ДВО РАН выделен стероидный гликозид голотоксин, который обладает фунгицидным действием. В ранее проведенных нами исследованиях мы показали, что ацетоновый экстракт тканей голотурии *E.f.* обладает фунгицидным действием только на *Candida albicans*. Так, при использовании чистых колоний *Candida albicans* на косом столбике среды Сабуро при действии ацетонового экстракта голотурии *E.f.* отмечена задержка роста на 2 суток и установлено достоверное уменьшение ( $p < 0,01$ ) диаметра колонии *Candida albicans* ( $0,1 \pm 0,05$  мм), по сравнению с контролем ( $35,0 \pm 0,08$  мм). Полученные данные подтвердили предположение исследователей, что фунгицидный эффект экстракта ткани голотурии может быть обусловлен их лизирующим действием на мембраны микроорганизмов. Следовательно, выяснилось, что фунгистатическое действие вытяжки из дальневосточного трепанга открывает перспективу для поиска новых антимикотических средств. Между тем, исходя из известного, что одним из важнейших факторов, защищающих организм человека от инфекций, является продукция некоторыми клетками крови, в частности нейтрофилами, активных форм кислорода и прежде всего супероксида-аниона мы сочли целесообразным провести исследование по оценке влияния экстракта голотурии *E.f.* на активность образования супероксида-аниона нейтрофилами крови человека. В работе использовалась венозная кровь 15 здоровых доноров. Нейтрофилы получали методом суммации в растворе декстрана с последующим центрифугированием в градиенте фиколл-верографина. В суспензии нейтрофилов в среде  $199$  ( $6 \times 10^6$  кл/мл) вносили водный раствор ацетонового экстракта голотурии в конечной концентрации  $0,1$  мг/мл. Клетки инкубировались с экстрактом 1 час при  $37^\circ\text{C}$ . Об активности продукции супероксид-аниона судили по количеству восстановленного нитросинего тетразолия (НСТ), измеряемому спектрофотометрически. Нами показано, что экстракт голотурии достоверно увеличивает количество НСТ с  $110 \pm 31$  мкг/ $10^6$  кл ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует об увеличении продукции супероксида-аниона данными клетками. Следовательно, наши данные свидетельствуют о возможности фунгицидного действия экстракта голотурии *E.f.* через стимуляцию функциональной активности нейтрофилов организма человека.

Итак, в результате наших исследований установлено, что ацетоновый экстракт тканей голотурии *E.f.* обладает фунгицидным действием, с одной стороны, предположительно за счет лизирующего действия на мембраны гриба и с другой, через стимуляцию функциональной активности нейтрофилов организма человека. Все это является обоснованной перспективой создания нового антимикотического препарата. Исследования в этом направлении продолжают.

## К ОПТИМИЗАЦИИ ТЕРАПИИ ПОВЕРХНОСТНОГО КАНДИДОЗА КОЖИ

*Юцковский А.Д., Миловидова Е.В.*  
Госмедуниверситет  
Владивосток

Анализ дерматологической заболеваемости в Дальневосточном регионе свидетельствует о неуклонном росте заболеваний, обусловленных условно-патогенными грибами, среди которых наиболее часто регистрируются кандидозные поражения различной локализации. Так, в Магаданской области частота встречаемости урогенитальной кандидозной инфекции значительно превышает уровень урогенитальной инфекции другой этиологии ( $p < 0,001$ ). По данным Приморского ГКВД ежегодно в крае регистрируется около 1000 больных поверхностным кандидозным поражением кожи и слизистых. Наиболее изучены и патогенетически значимы в развитии кандидозных поражений кожи *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*. Не вызывает сомнения, что основным возбудителем кожных грибковых заболеваний является *Candida albicans*. Известно, что возникновение и развитие кандидоза зависит от ряда экзогенных и эндогенных факторов, неблагоприятно влияющих на организм человека. Среди них прежде всего: патогенность штамма; нарушение целостности кожи и слизистой; повышение температуры и влажности отдельных участков кожного покрова; длительный прием антибиотиков, цитостатиков, кортикостероидов; прием оральных контрацептивов, сахароснижающих препаратов; снижение общего и местного иммунитета и другие. Диагностика поверхностных кандидозов, как правило, не вызывает затруднений и основывается на анализе жалоб, анамнезе заболевания, клинических признаках заболевания, а также лабораторных исследованиях – выявление мицелия, псевдомицелия или почкующихся клеток *Candida* при микроскопии и выделение возбудителя при бактериологическом посеве биоматериала. При неосложненных случаях поверхностных кандидозов кожи и слизистой для достижения лечебного эффекта достаточно проведения топической антимикотической терапии. Вместе с тем, на фоне все увеличивающегося количества различных наружных антимикотических препаратов мы сочли целесообразным поделиться опытом топической наружной терапии, позволяющей эффективно излечить поверхностный кандидоз кожи и слизистых, избежать развития рецидивов заболевания. Нами использован 2% крем «Пимафуцин», обладающий фунгицидным действием в отличие от многих производных азола и аллиламина, которые, как известно, относятся к фунгистатическим средствам. Активной субстанцией этого препарата является нагатамицин – полиеновый антибиотик группы макролидов. Обращает на себя внимание, что в процессе лечения резистентность к препарату не развивается. Он рассматривается как препарат с широким спектром противогрибковой активности, к нему

чувствительны большинство патогенных грибов, особенно дрожжевые и дрожжеподобные грибы, а также дерматофиты. Это важный фактор, позволяющий применять препарат при лечении смешанных грибковых инфекций или в случаях микозов кожи, при которых терапия назначается до того, как может быть идентифицирован возбудитель инфекции. Именно в таком положении находятся дерматологи, обслуживающие сельское население или судовые врачи в морских переходах.

Нами использован 2% крем «Пимафуцин» при поверхностных кандидозах кожи и слизистых у 52 больных, в возрасте от 12 до 55 лет (мужчин – 22, женщин – 30), обратившихся в клиники кафедры дерматовенерологии с курсом медицинской косметологии ВГМУ – КККВД, г.Владивостока и медицинский центр «МедРоса». У всех пациентов диагноз подтвержден лабораторными исследованиями – обнаружен *Candida albicans*. Крем больным наносили на кожу тонким слоем 2 раза в день, в течение 2-3 недель. Ни в одном случае побочные действия не выявлены, все больные отмечали хорошую переносимость препарата, удобство при его использовании. После окончания курса терапии в контрольных лабораторных результатах грибы *Candida* не обнаружены. Результат излеченности оценивали в течение 6 месяцев: у 46 из 52 больных рецидивов заболевания не зарегистрировано.

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует об эффективности 2% крема «Пимафуцин» при наружном лечении поверхностных кандидозных поражений кожи и слизистой. Вместе с тем, широкий спектр его действия в отношении различных видов грибов позволяет рекомендовать препарат в условиях терапии смешанных грибковых инфекций и в исключительных случаях при отсутствии возможности своевременной идентификации возбудителя инфекции при явной клинической картине дерматоза.

## **НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКИ МИКОЗА КОЖИ И НОГТЕЙ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДАУНА**

**Яковлев А.Б.**

*Российская Медицинская Академия Последипломного Образования  
Москва*

Микозами кожи ногтей стоп страдает не менее 25% населения. Свои клинические особенности течение заболевания и его симптоматики имеются в различных группах населения, выделяемых по возрастному, профессиональному признакам, а также по признакам сопутствующей или фоновой патологии. В литературе имеется значительное количество исследований, посвященных течению микоза кожи и ногтей на фоне сахарного диабета, нарушений периферического кровообращения, иннервации и т.п.

Мы наблюдали определенный патоморфоз клинической картины микоза кожи и онихомикоза у больных с синдромом Дауна.

Под нашим наблюдением находятся 30 больных с синдромом Дауна, содержащихся в одном из психоневрологических интернатов г. Москвы, у которых диагностирован микоз кожи и ногтей стоп (у двух из них имеется так же микоз кожи и ногтей кистей), 12 мужчин и 18 женщин.

Сроки наблюдения – 5 лет. У всех наблюдаемых больных диагноз микоза подтвержден обнаружением гриба микроскопически и культурально с очагов поражения: в 22 –х случаях получен рост *Trichophyton rubrum*, в восьми случаях – *T. mentagrophytes var. interdigitale*. Кроме того, у одного мужчины и пяти женщин с подтвержденным диагнозом онихомикоза стоп дерматомицетной этиологии, имеется кандидозная онихия и паронихия кистей. Еще в семи случаях посевов с ногтевых пластинок четвертого и пятого пальцев стоп был получен рост плесневого мицелия, однако сделать однозначно заключение о причинной роли плесени в возникновении онихомикозов и исключить контаминацию не представилось возможным.

Давность заболевания онихомикозов составило в среднем 3,3 года, микозом кожи (с учетом данных анамнеза) – 4,9 года.

Распределение больных по клиническим вариантам течения онихомикоза было следующим.

- нормотрофический тип (дистальный) – 10 ногтей;
- нормотрофический тип (дистально-латеральный) – 12 ногтей;
- гипертрофический тип – 66 ногтей;
- белая поверхностная форма – 19 ногтей (в том числе на кистях – 7 ногтей);
- атрофический артифициальный тип – 20 ногтей.

Распределение больных по клиническим вариантам поражения кожи:

- эритемато-сквамозный кладкой кожи – 7;
- фолликулярно-узловатый гладкой кожи – 3;
- дисгидрозиформный подошв – 5;
- инерттригинозный – 4;
- сквамозный – 5.

В 6 случаях из 7 нами отмечено отсутствие периферического валика в очагах на гладкой коже, отсутствие четких границ в очагах поражения, склонность к формированию сетчатых пигментаций в пределах очагов по мере их разрешения.

Клинической особенностью онихомикоза явилось формирование патологического процесса сразу с гипертрофического типа поражения, минуя стадию нормотрофического типа (в 19 из 30 клинических случаев, по данным анамнеза). Еще в 5 случаях нами отмечено проксимальное формирование белой поверхностной формы на фоне уже имеющегося гипертрофического типа онихомикоза.

Отмеченные клинические варианты течения микоза кожи и ногтей у больных с синдромом Дауна являются, по-видимому, проявлением нарушений со стороны нейроэндокринной регуляции трофики ткан

## Именной указатель

- А**
- Абрамян Дж. Г. 30  
 Авакян А.А. 104  
 Аветисян Г.К. 215  
 Автономова А.В. 242  
 Агафонова С.В. 209  
 Агниуллин Я.В. 202  
 Азизбекян Р. Р. 279  
 Айзикович Л.А. 132  
 Аксёнов И.В. 78  
 Аксеновская В. Е. 253  
 Актуганов Г.Э. 275  
 Александрова А.В. 159, 171  
 Александров И.Н. 112  
 Алексеев В.В. 66  
 Алексеев В.Г. 101  
 Ананьева Е.П. 158, 164  
 Андреев В.А. 277  
 Андрианова Г.В. 137  
 Андрус В. Н. 15, 301  
 Антоненко Л.А. 220  
 Антонов В.Б. 32  
 Антропова А. Б. 34  
 Арифов С.С. 278  
 Асланян Е. М. 171
- Б**
- Бабаянц О. В. 210  
 Бабицкая В. Г. 9, 17, 139, 142,  
 151, 81, 204,  
 213, 248  
 Бадалян С.М. 215  
 Бакулев А.Л. 339  
 Василисян М.С. 104  
 Баяндина И.И. 170  
 Белицкий И. В. 242  
 Белова Н. В. 13, 144, 218  
 Березина О.В. 35  
 Бибилова М. В. 146  
 Билай В. Т. 221
- Биланенко Е. Н. 34  
 Бисько Н. А. 139, 213, 220,  
 221, 267  
 Блинкова Л. П. 287  
 Богачева А.В. 223  
 Богдаев А.Г. 148  
 Богомолова Е. В. 51  
 Бойко М. И. 149  
 Бойко С. М. 227  
 Бондарь Т.О. 146  
 Борисова Н.А. 146  
 Боровский Г. Б. 209  
 Буркин А. А. 79, 88  
 Бухало А.С. 228  
 Бухман В.М. 242  
 Буякова И. В. 154  
 Быстрова Е.В. 159, 171
- В**
- Варницына В.В. 26  
 Василенко Е.Л. 231  
 Васильева Б.Ф. 187  
 Васильев О.Д. 39  
 Ветчинкина Е.П. 232  
 Воейкова Т. А. 279  
 Войчук С. И. 6  
 Володина Л. И. 159, 171  
 Волосатова И.С. 297  
 Воробьев Н.И. 23  
 Врынчану Н.А. 281  
 Вьючкова Н.В. 15  
 Вьючнова Н.В. 66
- Г**
- Гаврилова А.Г. 179  
 Газдиев Д. О. 8  
 Гайнулина А.Г. 321  
 Гайнулина А.Г. 318  
 Галанина Л. А. 189  
 Галимзянова Н. Ф. 275

Гарибова Л.В.	237	Ж	
Гвоздкова Т. С.	151, 204, 213	Жалиева Л.Д.	85
Генералов Р.В.	307	Жданова Н.Н.	354
Геуков М.А.	90	Желтикова Т. М.	34
Гиззатуллина С.В.	275	Желтоножский В.А.	354
Глушакова А.	132	Жукова С.И.	15
Глушко Н. И.	6,42	Журкович И.К.	13
Голикова М.В.	189		
Голованов А.Б.	283	З	
Горбунова И.А.	170	Зайкина М.Ю.	154
Горюнов А.В.	54	Зайкова Э.Ф.	346
Горячева И.Ю.	106	Залогина М. А.	210
Градусова О.Б.	43	Захарова Л. П.	87
Грамматикова Н. Э.	146	Зачиняева А. В.	60
Грашкин В. А.	339	Зачиняев Я.В.	60, 288
Грашкина И. Г.	339	Зубарев Р.А.	167
Грек Д.С.	69		
Григанский А.Ф.	231	И	
Григораш А.И.	154	Иванов А. М.	277
Григорян К. М.	80,81	Иванов Д.М.	239
Гроза Н. В.	283	Иванов И. В.	283
Громозова Е. Н.	6	Иванова А. Е.	47
Гурина С.В.	158, 164	Иванушкина Н. Е.	43
Д		Иконникова Н.В.	17, 142
Девяткина Г. А.	184	Иноятов А.Ш.	278
Демченко Р.А.	253	Исаакян Г.Л.	80
Дешева Е.А.	44	Исакова Е.Б.	242
Дигтярь А.В.	284	Исангалин Ф. Ш.	159, 171
Дмитрук В.С.	165	Искандаров М.И.	298
Долгушин И.И.	20, 22	Исмагилов А.И.	278
Долматов И.Ю.	355	К	
Дорофеева Е.С.	287	Казакова Е.В.	92
Дудник Н.В.	316, 317	Калинина Н.В.	186
Дудченко И.П.	112	Камзолкина О.В.	187
Е		Капич А. Н.	63, 162
Егизбаев М.К.	340	Каплиев В.И.	66
Егорова Л.Н.	83	Караулов А.В.	125
Едилов Р.И.	309	Карташова О.Л.	22
Еремин С.А.	95, 106, 121	Касымханова А.А.	340
Ефременкова О.В.	177, 187	Катлинский А. В.	146
		Катосова Л.К.	287

Киреева Н. А.	49	Курлович Н.А.	26
Киридели И.Ю.	51	Курочкин С.А.	101, 335
Кис В.И.	298	Кутковая О.В.	246
Кис И.В.	298	Кьюз У.	215
Кияшко А.А.	144, 255	Кюхер Т.	167
Клечак И.Р.	220	Л	
Климова И. Я.	349	Лавлинский А.В.	148
Ковалева Г.В.	223	Леонтьева М.И.	242
Ковалева Н.М.	23	Лесовой В. С.	301
Кожемякина Н.В.	158, 164	Липницкий А. В.	15, 66, 301
Кондратьева В.И.	8	Лисовская С. А.	6,42
Конова И. В.	189	Литвинов А.М.	298
Кононенко Г. П.	79, 88	Лихачев А. Н.	54
Корнейчик Т.В.	162	Лиховидов В. Е.	159, 171
Коробова Н.А.	159	Лоенко Н.Н.	154, 174
Королева Н.Ю.	271	Ломберг М.Л.	228, 260
Королева О. В.	354	Лопатенто Ю. С.	204
Корсун В.Ф.	165	Лощинина Е.А.	9
Корсун Е.В.	165	Луговец О.Ю.	277
Корыстов Ю.Н.	146	Лукманова К.А.	275
Косарева Н. И.	159, 171	Лукьяшина А.Н.	310
Котлова Е.Р.	167	Любая С.И.	351
Кочкина Г. А.	43	М	
Крапивина Е. А.	90	Мазур Т.В.	316, 317
Краснопольская Л. М.	242	Макарова Е.Ю.	318, 321
Криницына Ю.М.	290	Макаров О.Е.	9
Круподерова Т.А.	244	Маланичева Т. Г.	133
Крутьков В.М.	292	Малова И.О.	336
Крылова Л.Ю.,	297	Маноян М. Г.	312, 318, 321
Кубанова А.А.	341, 343	Мартынов А.А.	341, 343
Кудаярова Р.А.	120	Мартынова Е. А.	98
Кудрякова Г.Х.	92	Марфенина О. Е.	47, 57
Кузнецова Л.С.	92	Медведев А.Г.	101, 335
Кузнецова Н.В.	92	Мелентьев А. И.	275
Кузнецов В.И.	120	Мелик-Осипова Л.Е.	44
Кузьмина Л.Ю.	93	Меморская А. С.	186
Кузьмина Н.С.	95	Миловидова Е.В.	357
Куимова Н.Г.	35	Мирошниченко И.И.	60
Кукина Т.П.	170	Митропольская Н. Ю.	221
Купцова Н.В.	125	Митрофанов В. С.	126
Кураков А.В.	44		

- |                   |                                  |                    |                                  |
|-------------------|----------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Михайлова О.Б.    | 177, 228                         | Оленич И.А.        | 349                              |
| Михеева Н.В.      | 92                               | Оленников Д.Н.     | 209                              |
| Мицкевич А.Г.     | 63                               | Осадчая О. В.      | 142,151,181,213,271              |
| Мокеева В. Л.     | 34                               | Осипян Л. Л.       | 80, 108                          |
| Мокроносова М. А. | 132                              | <b>П</b>           |                                  |
| Мошнин М.В.       | 293                              | Павленко Т.Г.      | 128                              |
| Муковоз В.Н.      | 316, 317                         | Павлова О.В.       | 130                              |
| Муромцев А.Б.     | 288                              | Панин А. Н.        | 312, 318, 321                    |
| Мысякина И. С.    | 197                              | Панкова Г.Ф.       | 125                              |
| Мягкова Г. И.     | 283                              | Паромова Я.И.      | 26                               |
| Мясникова Т.Д.    | 339                              | Паромчик И.И.      | 271                              |
| <b>Н</b>          |                                  | Пароникян А.Е.     | 104                              |
| Нагула М.Н.       | 92                               | Паршаков В. Р.     | 42                               |
| Наквасина М.А.    | 148                              | Патрушев А.В.      | 277                              |
| Нанагюлян С. Г.   | 30, 104                          | Пензина Т. А.      | 209                              |
| Наумов А. Н.      | 171                              | Передеряев О.И.    | 184                              |
| Наумов Г. И.      | 8                                | Перунова Н. Б.     | 26                               |
| Наумова Е. С.     | 8                                | Петров А. Н.       | 252                              |
| Негрейко А. М.    | 177                              | Петров В.Б.        | 23                               |
| Нестеренко И.С.   | 106                              | Пиняскина Е. В.    | 294                              |
| Нестеренко Т.Г.   | 316, 317                         | Плакшина Л.В.      | 22                               |
| Неумывакин Л.В.   | 202                              | Пленина Л. В.      | 204                              |
| Нечет В.А.        | 22                               | Подлубная Л.В.     | 20,22                            |
| Никитина В. Е.    | 9,17, 142, 181,<br>232, 248, 262 | Подорольская Л. В. | 202                              |
| Николаева О.С.    | 13                               | Поединок Н. Л.     | 139, 177,<br>213, 228            |
| Николенко М.В.    | 26                               | Позднякова Е.А.    | 284                              |
| Новикова Н. Д.    | 44                               | Поликарпова С.В.   | 287                              |
| Новицкая И.В.     | 15, 66                           | Польских С. В.     | 253                              |
| Новосёлов А.В.    | 344                              | Потапов Е.Э.       | 189                              |
| Новосёлов В.С.    | 344                              | Псурцева Н. В.     | 13, 144, 167,<br>218, 255        |
| <b>О</b>          |                                  | Пучков А.В.        | 174                              |
| Овсебян В.В.      | 81                               | Пучкова Т. А.      | 9,17, 142, 181,<br>213, 248, 271 |
| Овчинников Р. С.  | 312, 318, 321                    | Пушкина Т. В.      | 297, 303                         |
| Овчинникова Т. А. | 68                               | <b>Р</b>           |                                  |
| Оганесян Е.Х.     | 30                               | Рафикова Г.Ф.      | 49                               |
| Огородников А.Н.  | 331                              | Редькина В.Ю.      | 346                              |
| Одокиенко А.Ю.    | 346                              |                    |                                  |
| Озерская С.М.     | 44                               |                    |                                  |
| Озерская С. М.    | 43                               |                    |                                  |

Редькин Ю.В. 346  
Ровбель Н. М. 69  
Рожкова З. А. 151, 181,  
204, 213  
Романько М.Е. 327  
Русанов В.А 113  
Русанов В.А. 113, 115  
Рябцев Д.А. 277  
Ряпис О.В. 252

**С**

Садовников Л.В. 354  
Садыкова В.С. 179  
Сапожникова А.И. 298  
Саргсян М.П. 80  
Саркисов К.А. 325, 329  
Свиридова О.В. 23  
Свиридов М.А. 20, 22  
Седова И. Б. 87, 110  
Сергеева Л.Е. 72  
Сергеев Д.В. 283  
Сергеева И. Г. 290  
Сергеева Я. Э. 189  
Сергиенко С.С. 288  
Серебрякова Т. Н. 202  
Серендеева Е.В. 68  
Сидоренко И.В. 125  
Синютин Н.Ф. 167  
Скрипка О.В. 112  
Скрыпник В.Г. 327  
Смирнов Д. А. 139, 142,  
151, 181  
Соколова Т.В. 132  
Соколова Г. Д. 184  
Солдатенко Н.А. 113, 115  
Соломенникова И.И. 60, 288  
Соломко Э. Ф. 260  
Спиридонова И. А. 146  
Стародубцева Г.П. 351  
Степанова Е. В. 354  
Степанова Ж. В. 348, 349  
Степанова Л.В. 262

Струнина Т.Б. 93  
Суббота А.Г. 73  
Султанбекова Г.Б. 340  
Сумарукова И.Г. 187  
Сурина Т.А. 112  
Суханова И.И. 47  
Сухарев А.В. 277  
Сухомлин М. Н. 246

**Т**

Тарантул В.З. 202  
Тарасова Т. Д. 301  
Тер-Восканян А.П. 108  
Терёшина В.М. 186  
Тимохина Т.Х. 26  
Тихонова О.В. 187  
Ткачевская Е.П. 189  
Толстиков А.Г. 283  
Топчий М.В. 351  
Труфанов О.В. 118  
Тугай Т.И. 354  
Турсункулов С.А. 329  
Тутельян В. А. 78, 110

**У**

Ушкалов В.А. 327

**Ф**

Федоров Ю.Н. 198  
Федюшина В.А. 253  
Феоктистова Е.А. 290  
Феофилова Е. П. 186, 195  
Фетисов Л.Н. 113, 115  
Филимонова Т.В. 17, 139,  
151, 271  
Филиппова Ю.О. 227  
Фомичева Г. М. 57  
Фунтикова Н. С. 197

**Х**

Хаертдинова Л.А. 133  
Халдеева Е. В. 6,42  
Ханис А. Ю. 198

Хохлов Н.В. 202

Хромов И.С. 202

## Ц

Царев С.В. 135

Цивилева О.М. 9,17, 142,  
81, 248

Цизь А.М. 267

Цыганенко Е.С. 27

## Ч

Чаплашкина Н.А. 68

Чашин А.Ю. 336

Чекунова Л. Н. 34

Чернова И.Е. 174

Чернов И.Ю. 132

Черноок Т. В. 151, 204

Чижмотря Н.М. 179

Чупрына О.Н. 340

## Ш

Шаварда А.Л. 167

Шапошникова В.В. 146

Шаркова Т. С. 202

Шахазизян И.В. 30, 104

Шахова Н.В. 255

Шелудько А.В. 262

Шелюк А.И. 270

Шилова И. Б. 303

Широких А.А. 331

Широков А.В. 120

Шхагапсоев С. Х. 90

## Щ

Щерба В. В. 9,17, 139, 142,  
151, 81, 204,  
213, 248, 271

## Э

Элланская Н.Э. 75

Эллер К.И. 78

Элоян И. М. 30

## Ю

Юцковская И.А. 355

Юцковский А. Д. 355, 357

## Я

Яковлев А. Б. 293, 358

Яковлева М.Е. 121

Яковлева Н.С. 144

Ященко А.С. 304

## С

Carlos Van Peteghem 106

## D

Duck-Hwa Chung 95

## J

Ju-Mi Choe 95

## S

Sarah De Saeger 106

## W

Won-Bo Shim 95, 121

## СОДЕРЖАНИЕ

## Глава 1

**БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА ГРИБОВ, ИМЕЮЩИХ  
ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ. ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА  
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ**

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ПРИ СЛАБЫХ ГРАВИТАЦИОННЫХ ВАРИАЦИЯХ ВЫЗВАННЫХ ПРОЦЕДУРОЙ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ <i>Войчук С.И., Громозова Е.Н.</i> .....	6
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА АДГЕЗИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ <i>CANDIDA ALBICANS</i> <i>Лисовская С.А., Глушко Н.И., Халдеева Е.В.</i> .....	6
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ БИОКОНТРОЛИРУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ РОДА <i>ZYGOWILLIOPSIS</i> <i>Наумов Г.И., Наумова Е.С., Кондратьева В.И., Газдиев Д.О.</i> .....	8
БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МИЦЕЛИЯ <i>LENTINUS EDODES</i> В СОВМЕСТНОЙ КУЛЬТУРЕ С ДИАЗОТРОФНЫМИ БАКТЕРИЯМИ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> <i>Никитина В.Е., Цивилева О.М., Лоцинина Е.А., Макаров О.Е., Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А.</i> .....	9
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА <i>PSILOCYBE (FR.) KUMM</i> <i>Николаева О.С., Псурцева Н.В., Белова Н.В., Журкович И.К.</i> .....	13
ОЦЕНКА ВИРУЛЕНТНОСТИ КУЛЬТУР РОДА <i>CANDIDA</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ СОТРУДНИКОВ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА <i>Новицкая И.В., Вьючкова Н.В., Липницкий А.В., Жукова С.И., Андрус В.Н.</i> .....	15
МЕЛАНИНОВЫЕ ПИГМЕНТЫ ГРИБОВ <i>LENTINUS EDODES</i> И <i>GANODERMA LUCIDUM</i> <i>Пучкова Т.А., Фильмонова Т.В., Бабицкая В.Г., Никитина В.Е., Цивилева О.М., Щерба В.В., Иконникова Н.В.</i> .....	17
ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ <i>CANDIDA ALBICANS</i> НА ПОВЕРХНОСТИ ВАГИНАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВАГИНАЛЬНОГО СЕКРЕТА <i>Свиридов М.А., Долгушин И.И., Подлубная Л.В.</i> .....	20
СРАВНЕНИЕ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ <i>CANDIDA ALBICANS</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЛАГАЛИЩА БОЛЬНЫХ ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН, С ПЕРСИСТЕНТНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЭТИХ ШТАММОВ <i>Свиридов М.А., Долгушин И.И., Плаксина Л.В., Подлубная Л.В., Нечет В.А., Карташова О.Л.</i> .....	22
АДАПТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЛИГНИНРАЗЛАГАЮЩЕГО КОМПЛЕКСА МИКРОМИЦЕТОВ, АКТИНОМИЦЕТОВ И БАКТЕРИЙ <i>Свиридова О.В., Воробьев Н.И., Петров В.Б., Ковалева Н.М.</i> .....	23

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНЫХ СВОЙСТВ ГРИБОВ РОДА <i>CANDIDA</i> <i>Тимохина Т.Х., Николенко М.В., Варницына В.В., Курлович Н.А., Перунова Н.Б., Паромова Я.И.</i> .....	26
ФИТОТОКСИЧЕКИЙ И ГЕРБИЦИДНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ <i>ASPERGILLUS PARVULUS</i> <i>Цыганенко Е.С.</i> .....	27

## Глава 2

### ГРИБЫ В СОВРЕМЕННОМ ОКРУЖЕНИИ ЧЕЛОВЕКА. МИКОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКОБИОТЫ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ, ОБЪЕКТОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ И НЕГАТИВНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИМИ <i>Абрамян Дж.Г., Нанаголян С.Г., Элоян И.М., Шахазизян И.В., Оганесян Е.Х.</i> .....	30
ГДЕ ПОРОГ ТОЛЕРАНТНОСТИ К МИКОТИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПОМЕЩЕНИЙ? <i>Антонов В.Б.</i> .....	32
МИКОБИОТА ДОМАШНЕЙ ПЫЛИГ. СОФИИ (БОЛГАРИЯ) <i>Антропова А.Б., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л., Чекунова Л.Н., Желтикова Т.М.</i> .....	34
МОНИТОРИНГ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ Г. БЛАГОВЕЩЕНСКА <i>Березина О.В., Куимова Н.Г.</i> .....	35
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КАК ПОКАЗАТЕЛИ САНИТАРНОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ <i>Васильев О.Д.</i> .....	39
ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА БЛАГОВЕЩЕНСКОГО СОБОРА КАЗАНСКОГО КРЕМЛЯ <i>Глушко Н.И., Лисовская С.А., Паршаков В.Р., Халдеева Е.В.</i> .....	42
ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ЦЕЛЯХ ПРОИЗВОДСТВА СУДЕБНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ <i>Градусова О.Б., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Озерская С.М.</i> .....	43
НАЛИЧИЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ И ТОКСИГЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ПОВЕРХНОСТЯХ КОНСТРУКЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ КОСМИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ <i>Дешева Е.А., Новикова Н.Д., Мелик-Осипова Л.Е., Озерская С.М., Кураков А.В.</i> .....	44
КЕРАТИНОФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ В ПОЧВАХ ГОРОДА МОСКВЫ (НА ПРИМЕРЕ РАЙОНОВ ТУШИНО И КРЫЛАТСКОЕ) <i>Иванова А.Е., Суханова И.И., Марфенина О.Е.</i> .....	47
РАЗВИТИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ..... <i>Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф.</i> .....	49
АЭРОМИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ МУЗЕЙНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА <i>Кирцидели И.Ю., Богомолова Е.В.</i> .....	51
МИКОБИОТА ПОМЕЩЕНИЙ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД ВРЕМЕНИ <i>Лихачев А.Н., Горюнов А.В.</i> .....	54

ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА (АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ДАННЫХ) <i>Марфенина О.Е., Фомичева Г.М.</i> .....	57
НЕГАТИВНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ АНТРОПОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОМПЛЕКСОВ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ <i>Мирошниченко И.И., Зачиняева А.В., Соломенникова И.И., Зачиняев Я.В.</i> .....	60
МОНИТОРИНГ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ МУЗЕЙНЫХ ПРЕДМЕТОВ <i>Мицкевич А.Г., Капич А.Н.</i> .....	63
ГРИБЫ КАК БИОДЕСТРУКТОРЫ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА <i>Новицкая И.В., Вьючнова Н.В., Липницкий А.В., Алексеев В.В., Каплиев В.И.</i> .....	66
СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ВОЗДУШНОЙ МИКОФЛОРЫ ГОРОДА САМАРА <i>Овчинникова Т.А., Серендеева Е.В., Чаплашкина Н.А.</i> .....	68
МИКОАЭРОМИКОТА ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ГОРОДА МИНСКА <i>Ровбель Н.М., Грек Д.С.</i> .....	69
КРИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ В КНИГОХРАНИЛИЩАХ <i>Сергеева Л.Е.</i> .....	72
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И КОНЦЕНТРАЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ В ВОЗДУХЕ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ, ПОСТРАДАВШИХ ОТ АВАРИЙ <i>Суббота А.Г.</i> .....	73
ГРИБЫ В РИЗОСФЕРЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ УКРАИНСКОГО СТЕПНОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА <i>Элланская Н.Э.</i> .....	75

### Глава 3

#### МИКОТОКСИКОЗЫ И ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ. ТОКСИГЕННЫЕ ГРИБЫ В НАРОДНОМ ХОЗЯЙСТВЕ

ОЦЕНКА РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ РФ, СВЯЗАННОГО С ЗАГРЯЗНЕНИЕМ МИКОТОКСИНОМ ОХРАТОКСИНОМ А ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ <i>Аксёнов И.В., Эллер К.И., Тутельян В.А.</i> .....	78
ИММУНОАНАЛИЗ МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНОВОМ СЫРЬЕ И ПРОДУКЦИИ ПИВОВАРЕНИЯ <i>Буркин А.А., Кононенко Г.П.</i> .....	79
МИКОЛОГИЧЕСКАЯ И МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА СУШЕНОГО ЧАБРЕЦА <i>Григорян К.М., Осипян Л.Л., Саргсян М.П., Исаакян Г.Л.</i> .....	80
ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ВИДА <i>A. FLAVUS</i> В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ ПРЯНОСТЕЙ <i>Григорян К.М., Овсепян В.В.</i> .....	81
МИКРОМИЦЕТЫ – КОНТАМИНАНТЫ ЗЕРНА ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ <i>Егорова Л.Н.</i> .....	83
ФУЗАРИОЗЫ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ <i>Жалиева Л.Д.</i> .....	85

АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КОНТРОЛЯ ЗА ЗАГРЯЗНЕНИЕМ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО ЗЕРНА ФУЗАРИОТОКСИНАМИ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛОМ И ЗЕАРАЛЕНОНОМ .....	
<i>Захарова Л.П., Седова И.Б.</i> .....	87
ЭМОДИН: КОНТАМИНАЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КОРМОВ	
<i>Кононенко Г.П., Буркин А.А.</i> .....	88
ЯДОВИТЫЕ ГРИБЫ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КAVKAZA	
<i>Кративина Е.А., Шхагапсоев С.Х., Геуков М.А.</i> .....	90
СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД И ОСОБЕННОСТИ ЗАЩИТЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ОТ ПОРАЖЕНИЯ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМ	
<i>Кузнецова Л.С., Михеева Н.В., Нагула М.Н., Казакова Е.В., Кудрякова Г.Х., Кузнецова Н.В.</i> .....	92
ПОДАВЛЕНИЕ ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУРС ПОМОЩЬЮ ФУНГИЦИДОВ	
<i>Кузьмина Л.Ю., Струнина Т.Б.</i> .....	93
ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ОХРАТОКСИНА-АС ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ	
<i>Кузьмина Н.С., Ju-Mi Choe, Won-Bo Shim, Duck-Hwa Chung, Еремин С.А.</i> .....	95
ФУМОНИЗИН В1 КАК РЕГУЛЯТОР СТРЕССОВЫХ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ	
<i>Мартынова Е.А.</i> .....	98
СЪЕДОБНЫЕ ГРИБЫ КАК ИСТОЧНИК ПОСТУПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА (НА ПРИМЕРЕ МАКРОМИЦЕТОВ ЛЕСОПАРКОВ Г. ТВЕРИ)	
<i>Медведев А.Г., Курочкин С.А., Алексеев В.Г.</i> .....	101
ГРИБНЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ В АРМЕНИИ И ЯДОВИТЫЕ ВИДЫ РОДА <i>INOCYBE</i>	
<i>Нанаюлян С.Г., Басилисян М.С., Шахазизян И.В., Пароникян А.Е., Авакян А.А.</i> .....	104
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОХРАТОКСИНА А В СПЕЦИЯХ И ЛАКРИЦЕ МЕТОДОМ ТРЕХСТАДИЙНОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	
<i>Нестеренко И.С., Горячева И.Ю., Sarah De Saeger, Еремин С.А., Carlos Van Peteghem</i> ....	106
ПОРАЖЕНИЕ ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТОЙ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ АРМЕНИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЧАЯ	
<i>Осиян Л.Л., Тер-Восканян А.П.</i> .....	108
ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА, СВЯЗАННОЙ С ФУМОНИЗИНАМИ	
<i>Седова И.Б., Тутельян В.А.</i> .....	110
ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	
<i>Скрипка О.В., Александров И.Н., Дудченко И.П., Сурина Т.А.</i> .....	112
МИКОТОКСИКОЗЫ СВИНЕЙ	
<i>Солдатенко Н.А., Фетисов Л.Н., Русанов В.А.</i> .....	113
МИКРОМИЦЕТЫ И ИХ ТОКСИНЫ В КОРМАХ СЕЛЬХОЗПРЕДПРИЯТИЙ ЮФО РОССИИ	
<i>Солдатенко Н.А., Фетисов Л.Н., Русанов В.А.</i> .....	115
ТОКСИЧНОСТЬ НТ-2 ТОКСИНА В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕЙ <i>CANDIDA PSEUDOTROPICALIS</i> 44 ПК И АКВАРИУМНЫХ РЫБ <i>LEBISTIS RETICULATES</i> , ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В МЕТОДАХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	
<i>Труфанов О.В.</i> .....	118

ВОЗБУДИТЕЛИ КАГАТНЫХ ГНИЛЕЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМИ <i>Широков А.В., Кудярова Р.А., Кузнецов В.И.</i> .....	120
РАЗРАБОТКА ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ДЛЯ ЭКСПРЕСНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНА ЗЕАРАЛЕНОНА <i>Яковлева М.Е., Won-Bo Shim, Еремин С.А.</i> .....	121

#### Глава 4

### МИКОГЕННАЯ АЛЛЕРГИЯ. ГРИБЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

РОЛЬ ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА <i>Караулов А.В., Сидоренко И.В., Кузцова Н.В., Панкова Г.Ф.</i> .....	125
РУМИКОЗ В ТЕРАПИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА <i>Митрофанов В.С.</i> .....	126
КЛИНИКО-ПАРАКЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА <i>Павленко Т.Г.</i> .....	128
ОСОБЕННОСТИ ПСИХИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ МИКОТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ <i>Павлова О.В.</i> .....	130
ЛИПОФИЛЬНЫЕ ДРОЖЖИ РОДА MALASSEZIA ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ <i>Соколова Т.В., Глушакова А., Чернов И.Ю., Мокроносова М.А., Айзикович Л.А.</i> .....	132
РОЛЬ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ФОРМИРОВАНИИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗОВ У ДЕТЕЙ <i>Хаертдинова Л.А., Маланичева Т.Г.</i> .....	133
ГРИБКОВАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. ....	135
<i>Царев С.В.</i> .....	135

#### Глава 5

### ГРИБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ. НОВЫЕ ЛЕКАРСТВА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ ГРИБОВ

ПРИМЕНЕНИЕ БАД «ФЛОРАВИТ Э» НА ОСНОВЕ FUSARIUM SAMBUCINUM В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ГЕМОРРОЯ <i>Андрянова Г.В.</i> .....	137
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИСАХАРИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИЦЕЛИЯ МЕСТНЫХ ШТАММОВ GANODERMA LUCIDUM <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Смирнов Д.А., Бисько Н.А., Филимонова Т.В., Поединок Н.Л.</i> ..	139
ГЛИКОПРОТЕИНЫ LENTINUS EDODES: ФАКТОРЫ ВЛИЯЮЩИЕ НА ИХ ОБРАЗОВАНИЕ <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А., Никитина В.Е., Цивилева О.М., Иконникова Н.В., Смирнов Д.А., Осадчая О.В.</i> .....	142
ПРОДУКЦИЯ ЛАККАЗ У БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ <i>Белова Н.В., Яковлева Н.С., Псурцева Н.В., Кияшко А.А.</i> .....	144

МИКРОМИЦЕТЫ – ПРОДУЦЕНТЫ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>Бибикова М.В., Грамматикова Н.Э., Спиридонова И.А., Борисова Н.А., Бондарь Т.О., Корыстов Ю.Н., Шапошникова В.В., Катлинский А.В.</i> .....	146
ИЗУЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ МАСЛЯНЫМИ ЭКСТРАКТАМИ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ <i>LENTINUS EDODES</i> У МЫШЕЙ С ПРИВИТОЙ ОПУХОЛЬЮ КАРЦИОМЫ <i>Богдаев А.Г., Лавлинский А.В., Наквасина М.А.</i> .....	148
ХАРАКТЕР НАКОПЛЕНИЯ БЕЛКА И БИОМАССЫ ШТАММОМ M-81 <i>HIRSCHIOPORUS LARICINUS</i> (BREF) RYV- ПРОДУЦЕНТОМ ПРОТЕИНАЗ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>Бойко М.И.</i> .....	149
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ В КАЧЕСТВЕ ИСТОЧНИКОВ БИОАКТИВНЫХ ЛИПИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ <i>Гвоздкова Т.С., Черноок Т.В., Филимонова Т.В., Рожкова З.А., Осадчая О.В., Смирнов Д.А., Щерба В.В., Бабицкая В.Г.</i> .....	151
«ФЛОРАВИТ Э» – ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, КАК РЕГУЛЯТОРА РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ЧЕЛОВЕКА <i>Григораш А.И., Лоенко Н.Н., Зайкина М.Ю., Буякова И.В.</i> .....	154
β ГЛЮКАНЫ ГРИБОВ КАК ИММУНОСТИМУЛЯТОРЫ <i>Гурина С.В., Ананьева Е.П., Кожемякина Н.В.</i> .....	158
АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ <i>Исангалин Ф.Ш., Лиховидов В.Е., Володина Л.И., Александрова А.В., Косарева Н.И., Быстрова Е.В., Коробова Н.А.</i> .....	159

## Глава 6

### КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ ГРИБЫ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ И ОПЫТ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ ПЛОДОВЫХ <i>TELLAETIROPORUS SULPHUREUS</i> (BULL.: FR.) MURRIL НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ <i>Агафонова С.В., Боровский Г.Б., Пензина Т.А., Оленников Д.Н.</i> .....	209
РАЗНООБРАЗИЕ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>FLAMMULINA VELUTIPES</i> (CURTIS:FR.) SINGER – ОСНОВА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ <i>Бабаянц О.В., Залогина М.А.</i> .....	210
<i>CORDYCEPS MILITARIS</i> – ОБЪЕКТ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ <i>Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздкова Т.С., Бисько Н.А., Рожкова З.А., Пучкова Т.А., Осадчая О.В., Поединок Н.Л.</i> .....	213
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ПАРАМЕТРЫ РОСТА МИЦЕЛИЯ НЕКОТОРЫХ КОПРИНОИДНЫХ ГРИБОВ <i>Бадалян С.М., Аветисян Г.К., Кьюз У.</i> .....	215
КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР БАЗИДИОМИЦЕТОВ ЛЕ (БИН) НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ РАЗВИТИЯ <i>Белова Н.В., Псурцева Н.В.</i> .....	218

ОСОБЕННОСТИ РОСТА БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ РОДА <i>CORIOLUS QUEL</i> В ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЕ <i>Бисько Н.А., Клечак И.Р., Антоненко Л.А.</i> . . . . .	220
ВЛИЯНИЕ СЪЕДОБНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ГРИБА СИИТАКЕ / <i>LENTINUS EDODES</i> (BERK.) SING./ НА СИСТЕМУ ОКСИДАЗНОЙ ЗАЩИТЫ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ <i>Бисько Н.А., Митропольская Н.Ю., Билай В.Т.</i> . . . . .	221
ДИСКОМИЦЕТЫ ЛЕСОПАРКОВЫХ ЗОН ВЛАДИВОСТОКА . . . . .	223
<i>Богачева А.В., Ковалева Г.В.</i> . . . . .	223
ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ЭНДОПОЛИГАЛАКТУРОНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ <i>Бойко С.М., Филиппова Ю.О.</i> . . . . .	227
СКРИНИНГ ШТАММОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАКРОМИЦЕТОВ В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР ШЛЯПОЧНЫХ ГРИБОВ <i>Бухало А.С., Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Ломберг М.Л.</i> . . . . .	228
ЗАВИСИМОСТЬ УРОЖАЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ <i>LENTINULA EDODES</i> (BERG.) <i>PEGLER</i> ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ ИНКУБАЦИИ <i>Василенко Е.Л., Григанский А.Ф.</i> . . . . .	231
ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА БЕЛКОВ РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР КУЛЬТИВИРУЕМОГО КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА <i>LENTINUS EDODES</i> <i>Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е.</i> . . . . .	232
ПИЩЕВАЯ И ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ СЪЕДОБНЫХ ГРИБОВ <i>Гарибова Л.В.</i> . . . . .	237
О ТАКСОНОМИЧЕСКОМ СТАТУСЕ ПОДОСИНОВИКОВ, ПОРАЖЕННЫХ <i>VERTICILLIUM TERRESTRE</i> <i>Иванов Д.М.</i> . . . . .	239
ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЕ СПОСОБЫ ПОГРУЖЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КСИЛОТРОФНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И ЛЕКАРСТВЕННО-СЪЕДОБНЫХ ВИДОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ <i>Краснопольская Л.М., Автономова А.В., Леонтьева М.И., Белицкий И.В., Исакова Е.Б., Бухман В.М.</i> . . . . .	242
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ <i>GANODERMA APPLANATUM</i> (PERS.: WALLR.) <i>PATI G. LUCIDUM</i> (CURT.: FR.) <i>P. KARST</i> <i>Круподерова Т.А.</i> . . . . .	244
ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА НА РОСТ <i>MORCHELLA STEPPICOLA</i> <i>Кутковая О.В., Сухомлин М.Н.</i> . . . . .	246
СОВРЕМЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ <i>LENTINUS EDODES</i> <i>Никитина В.Е., Цивилева О.М., Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Пучкова Т.А.</i> . . . . .	248
АГАРИКОВЫЕ ГРИБЫ, КАК КОМПОНЕНТ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БРУЦЕЛЛЕЗА <i>Петров А.Н., Ряпис О.В.</i> . . . . .	252

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ГУМИСОЛ ФУРОР» И ИОНОВ СА НА ОНТОГЕНЕЗ ГРИБОВ ВЕШЕНКИ ( <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> ) ШАМПИНЬОНОВ ( <i>AGARICUS BISPORUS</i> ) И ЗИМНЕГО ОПЕНКА ( <i>FLAMMULINA</i> ) <i>Польских С.В., Аксеновская В.Е., Федюшина В.А., Демченко Р.А.</i> . . . . .	253
ЭКОЛОГО-ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ В КУЛЬТУРЕ МАКРОМИЦЕТОВ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ИНТЕРЕС ДЛЯ МЕДИЦИНЫ <i>Псурцева Н.В., Кияшко А.А., Шахова Н.В.</i> . . . . .	255
БИОЛОГИЯ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СВОЙСТВА <i>AGROCYBE AEGERITA (BRIG.) SINGER</i> <i>Соломко Э.Ф., Ломберг М.Л.</i> . . . . .	260
СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАЗИДИОМИЦЕТА <i>GRIFOLA FRONDOSA (FR.) S.F. GRAY</i> И РИЗОБАКТЕРИИ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> : ЗНАЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ПРИ ПЕРВИЧНОМ КОНТАКТИРОВАНИИ <i>Степанова Л.В., Никитина В.Е., Шелудько А.В.</i> . . . . .	262
РОСТ МИЦЕЛИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ ПОРЯДКА <i>ARHYLLOPHORALES</i> НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ <i>Цизь А.М., Бисько Н.А.</i> . . . . .	267
ПЛОДОНОШЕНИЕ ШТАММОВ СЪЕДОБНОГО, МЕДИЦИНСКОГО ГРИБА <i>FLAMMULINA VELUTIPES (FR.) P. KARST</i> НА РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТРАТАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА <i>Шелюк А.И.</i> . . . . .	270
ГРИБЫ РОДА ВЕШЕНКА – ИНГРЕДИЕНТЫНОВЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ <i>Щерба В.В., Паромчик И.И., Пучкова Т.А., Осадчая О.В., Филимонова Т.В., Королева Н.Ю.</i> . . . . .	271

## Глава 7

### ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИМИКОТИКИ И МЕТОДЫ С ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА ПРОЯВЛЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММА <i>BACILLUS SUBTILIS</i> ИБ-54 К ГРИБАМ – ВОЗБУДИТЕЛЯМ ДЕРМАТОМИКОЗОВ <i>Актуганов Г.Э., Галимзянова Н.Ф., Мелентьев А.И., Лукманова К.А., Гиззатуллина С.В.</i> . . . . .	275
АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОРРИГИРУЮЩИХ ОРТЕЗОВ СТОП С ФУНГИЦИДНЫМ КОМПОНЕНТОМ <i>Андреев В.А., Сухарев А.В., Патрушев А.В., Рябцев Д.А., Луговец О.Ю., Иванов А.М.</i> . . . . .	277
ЛАМИЗИЛ В ТЕРАПИИ ИЗОНОЗНОГО КОЖНОГО ЛЕЙШМАНИОЗА <i>Арифов С.С., Исмаилов А.И., Инояттов А.Ш.</i> . . . . .	278
ГЕНОФОНД ПРИРОДНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ИСТОЧНИК ФУНГИЦИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ <i>Воейкова Т.А., Азизбекян Р.Р.</i> . . . . .	279
ИНГИБИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ 4-(АДАМАНТИЛ –1)- 1-(1-АМИНОБУТИЛ) БЕНЗОЛА ПО ОТНОШЕНИЮ К ДРОЖЖЕПОДОБНЫМ ГРИБАМ <i>Врынчану Н.А.</i> . . . . .	281

СИНТЕЗ ПРИРОДНЫХ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>Гроза Н.В., Голованов А.Б., Иванов И.В., Сергеев Д.В., Толстиков А.Г., Мяжкова Г.И.</i> . . . . .	283
ПОВЫШЕНИЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭХИНОКАНДИНОВ И РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПОИСКА НОВЫХ АНТИМИКОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА ОСНОВАНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМОВ ГРИБОВ <i>Дигтярь А.В., Позднякова Е.А.</i> . . . . .	284
ИЗУЧЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, СИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИОЦИНЫ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АНТИКАНДИДОЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>Дорофеева Е.С., Блинкова Л.П., Катосова Л.К., Поликарпова С.В.</i> . . . . .	287
ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПЕРФТОРИРОВАННЫХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В КОНЕХОЗЯЙСТВАХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ И КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТЕЙ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ДРЕВЕСИНЫ ОТ ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ <i>Зачиняев Я.В., Муромцев А.Б., Соломенникова И.И., Сергиенко С.С.</i> . . . . .	288
ОЦЕНКА ОБОСНОВАННОСТИ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПАЦИЕНТАМИ ПРЕПАРАТОВ С ПРОТИВОГРИБКОВЫМИ СВОЙСТВАМИ ПРИ ДЕРМАТОЗАХ <i>Крицыцына Ю.М., Сергеева И.Г., Феоктистова Е.А.</i> . . . . .	290
РЕСУРСЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЦЕЛЕВОЙ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, В ТОМ ЧИСЛЕ ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИКОЗОВ <i>Крутьков В.М.</i> . . . . .	292
ПОДАВЛЕНИЕ РОСТА КОЛОНИЙ ПЛЕСНЕВОГО ГРИБА УФ-ИЗЛУЧЕНИЕМ В ПРИСУТСТВИИ ФУРОКУМАРИНА <i>Мошин М.В., Яковлев А.Б.</i> . . . . .	293
ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО КРАСНОГО СВЕТА НА <i>CANDIDA GUILLIERMONDII</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ UVA-ИЗЛУЧЕНИЯ <i>Пиняскина Е.В.</i> . . . . .	294
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА—МИКОЗИДИНА ПРИСЫПКИ И МАЗИ В ОПЫТАХ IN VITRO <i>Пушкина Т.В., Крылова Л.Ю., Волосатова И.С.</i> . . . . .	297
АНТИГРИБНАЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА АВИКОЛ-Н <i>Сапожникова А.И., Кис И.В., Литвинов А.М., Искандаров М.И., Кис В.И.</i> . . . . .	298
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ АММОНИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ <i>Тарасова Т.Д., Липницкий А.В., Лесовой В.С., Андрус В.Н.</i> . . . . .	301
ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИМИКОТИКА ПРОИЗВОДНОГО ТИАЗОЛИДИН-2,4-ДИОНА МИКОЗИДИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ СИСТЕМНОМ ПРИМЕНЕНИИ <i>Шилова И.Б., Пушкина Т.В.</i> . . . . .	303
НОВЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ АНТИФУНГАЛЬНОГО И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ МИКОБАКСАН <i>Яценко А.С.</i> . . . . .	304

## Глава 8

**АНТРОПОЗООНОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ И МИКОЗЫ ЖИВОТНЫХ**

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ «СТРЕПТОМИК» ПРИ АССОЦИАТИВНЫХ БОЛЕЗНЯХ КОЖИ (ТРИХОФИТИИ, МИКРОСПОРИИ И СТРЕПТОКОККОЗА) ПЛОТЯЯДНЫХ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ <i>Генералов Р.В.</i> .....	307
ТЕРАПИЯ СОБАК И КОШЕК, БОЛЬНЫХ МИКРОСПОРИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ДЕРМАТОФИТОМ <i>MICROSPORUM CANIS</i> <i>Едилов Р.И.</i> .....	309
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ МИКОКАНИФЕЛ ПРИ ДЕРМАТОФИТОЗАХ СОБАК И КОШЕК <i>Лукьяшина А.Н.</i> .....	310
МИКОНОСИТЕЛЬСТВО ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ – ОСНОВНОЙ ФАКТОР РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ ДЕРМАТОФИТОЗОВ ЛЮДЕЙ <i>Маноян М.Г., Овчинников Р.С., Панин А.Н.</i> .....	312
ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИКОЗОВ ЛОШАДЕЙ <i>Муковоз В.Н., Мазур Т.В., Нестеренко Т.Г., Дудник Н.В.</i> .....	316
ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИКОЗОВ ЛОШАДЕЙ <i>Муковоз В.Н., Мазур Т.В., Нестеренко Т.Г., Дудник Н.В.</i> .....	317
МИКОЗЫ РЕПТИЛИЙ <i>Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Гайнуллина А.Г., Макарова Е.Ю., Панин А.Н.</i> .....	318
ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ МИКОЗЫ ЖИВОТНЫХ <i>Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Макарова Е.Ю., Гайнуллина А.Г., Панин А.Н.</i> .....	321
ОЗДОРОВЛЕНИЕ ФЕРМЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ОТ ТРИХОФИТИИ <i>Саркисов К.А.</i> .....	325
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ ВАКЦИН <i>Скрытник В.Г., Ушкалов В.А., Романько М.Е.</i> .....	327
ДИНАМИКА ТИТРОВ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ВЕРБЛЮДОВ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ ДОЗАМИ ВАКЦИНЫ УШВАК ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ ЖИВОТНЫХ <i>Турсункулов С.А., Саркисов К.А.</i> .....	329
ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПРИ ДЕРМАТОМИКОЗАХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ <i>Широких А.А., Огородников А.Н.</i> .....	331

## Глава 9

**ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

ЗНАЧЕНИЕ МИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСКУРСИЙ В ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПОДГОТОВКЕ СПЕЦИАЛИСТОВ <i>Курочкин С.А., Медведев А.Г.</i> .....	335
---	-----

ПРЕПОДАВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ НА ЦИКЛАХ СЕРТИФИКАЦИОННОГО УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГОВ <i>Чащин А.Ю., Малова И.О.</i> .....	336
--	-----

### Глава 10

## ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ 4 ВСЕРОССИЙСКОГО КОНГРЕССА ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ, НЕ ВОШЕДШИХ В 7 И 8 ТОМА СБОРНИКА «УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗОВ СТОП У ЛИЦ СТАРШЕГО ВОЗРАСТА <i>Грашкина И.Г., Бакулев А.Л., Грашкин В.А., Мясникова Т.Д.</i> .....	339
АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ДЕРМАТОМИКОЗАМИ В ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН <i>Егизбаев М.К., Султанбекова Г.Б., Касымханова А.А., Чупрына О.Н.</i> .....	340
ОБ ИНДИКАТОРАХ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ <i>Мартынов А.А., Кубанова А.А.</i> .....	341
ОТВЕТСТВЕННОЕ САМОЛЕЧЕНИЕ СЕГОДНЯ <i>Мартынов А.А., Кубанова А.А.</i> .....	343
КРИТЕРИИ ВЫБОРА АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ <i>Новосёлов В.С., Новосёлов А.В.</i> .....	344
ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ УРОГЕНИТАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ <i>Редькин Ю.В., Одокиенко А.Ю., Редькина В.Ю., Зайкова Э.Ф.</i> .....	346
ИЗМЕНЕНИЕ ОКРАСКИ НОГТЕЙ ГРИБКОВОЙ И НЕГРИБКОВОЙ ЭТИОЛОГИИ <i>Степанова Ж.В.</i> .....	348
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СИСТЕМНЫХ АНТИМИКОТИКОВ ПРИ МИКРОСПОРИИ <i>Степанова Ж.В., Оленич И.А., Климова И.Я.</i> .....	349
ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА МИКОФЛОРУ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ <i>Топчий М.В., Стародубцева Г.П., Любая С.И.</i> .....	351
ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ <i>Тугай Т.И., Жданова Н.Н., Желтоножский В.А., Садовников Л.В., Королева О.В., Степанова Е.В.</i> .....	354
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ <i>Юцковский А.Д., Долматов И.Ю., Юцковская И.А.</i> .....	355
К ОПТИМИЗАЦИИ ТЕРАПИИ ПОВЕРХНОСТНОГО КАНДИДОЗА КОЖИ <i>Юцковский А.Д., Миловидова Е.В.</i> .....	357
НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКИ МИКОЗА КОЖИ И НОГТЕЙ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДАУНА <i>Яковлев А.Б.</i> .....	358

## **Успехи медицинской микологии**

под общей научной редакцией Ю.В. Сергеева  
**Том IX**

Научное издание

Издательство  
«Национальная академия микологии»  
<http://www.mycology.ru>

Подписано в печать 09.03.2007 г. Формат 60x90/16  
Печать офсетная. Печ. л. 23,5. Тираж 900 экз.