

15. Sannikova, I. V. Kongo-Krymskaya gemorragicheskaya likhoradka: kliniko-patogeneticheskie aspekty i optimizatsiya lecheniya. Avtoreferat dissertatsii doktora meditsinskikh nauk [Congo-Crimean hemorrhagic fever: clinical and pathogenetic aspects and treatment optimization. Abstract of thesis of Doctor of Medical Sciences]. Moscow, 2009, 45 p.
16. Cherenov I. V., Maleev V. V., Galimzyanov Kh. M., Oganessian Yu. V., Cherenova L. P. Sovremennye aspekty klinicheskikh proyavleniy Krymskoy gemorragicheskoy likhoradki [Modern aspects of clinical manifestations of Crimean hemorrhagic fever]. Infektsionnye bolezni [Infectious diseases], 2005, vol. 3, no. 2, pp. 86–90.
17. Cherenova L. P., Galimzyanov Kh. M., Vasil'kova V. V., Cherenov I. V. Differentsial'naya diagnostika gemorragicheskoy likhoradki Krym-Kongo na sovremennom etape [Differential diagnostics of Crimea-Congo hemorrhagic fever at the present stage]. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal [Kazan Medical Journal], 2014, vol. 95, no. 5, pp. 748–751.
18. Yushchuk N. D., Vengerov Yu. Ya. Lektsii po infektsionnym bolezniam: v 2 t. [Lectures on infectious diseases: 2 tons]. Moscow, GEOTAR-Media, 2016, vol. 1, 656 p.
19. Bakir M., Ugurlu M., Dokuzoguz B. Crimen-Congo hemorrhagic fever outbreak in Middle Anatolia: a multicentrestude of clinical features and outcome measures. J. Med. Microbiol, 2005, vol. 54, pp. 385–389.
20. Drosten C. P., Minnak D. A., Emmerich P. A. Crimean Congohemorrhagicfeverin Kosovo. J. Clin. Microbiol, 2002, vol. 40, pp. 1122–1123.
21. Ergonul O., Whitehouse C. A. Clinical and pathological features of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Crimean-Congo haemorrhagic fever. Global Perspective. Dordrecht, Springer, 2007, pp. 207–220.
22. Ergonul O., Celikbas A., Dokuzoguz B. The characteristics of Crimen-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and the impact of oral ribavirin therapy. Clin. Infect. Dis, 2004, vol. 39, pp. 284–287.
23. Ergonul O. Treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Antiviral. Res., 2008, vol. 78, no. 1, pp. 125–130.

03.02.03 – Микробиология (медицинские науки)

УДК 579.887:599.82

DOI 10.17021/2019.14.4.45.52

© И.В. Раковская, И.М. Аршба, О.И. Бархатова,

Г.А. Левина, Л.Г. Горина, Н.А. Гамова, С.А. Гончарова, 2019

## **ВЫЯВЛЕНИЕ НЕОБЫЧНЫХ КЛЕТОК МИКОПЛАЗМ, ПЕРСИСТИРУЮЩИХ У ОБЕЗЬЯН**

**Раковская Ирина Валентиновна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел.: (499) 190-43-68, e-mail: rakovskaya35@mail.ru.

**Аршба Илона Мурмановна**, кандидат биологических наук, и. о. заведующей лабораторией инфекционной патологии, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», Россия, 354376, г. Сочи, с. Веселое, ул. Мира, д. 177, тел.: (862) 243-20-28, e-mail: aim26@mail.ru.

**Бархатова Ольга Ивановна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18., тел.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Левина Галина Александровна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Горина Луиза Георгиевна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел.: (499) 190-43-68, e-mail: lugor@bk.ru.

**Гамова Наталья Александровна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Гончарова Светлана Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микоплазм и L-форм бактерий, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Минздрава России, Россия, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, тел.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

Многолетнее сотрудничество ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» по исследованию спонтанной микоплазменной инфекции у разных видов обезьян Адлерского питомника показало широкую распространенность носительства микоплазм и уреоплазм. Выделенные из организма обезьян микоплазмы, образующие мини-колонии, аналогичны тем, которые выделяли от пациентов с различными хроническими патологическими процессами. Клетки мини-колоний устойчивы к различным неблагоприятным факторам, вызывающим гибель клеток классических колоний. Клетки мини-колоний резистентны к антибиотикам, обладающим принципиально различными механизмами действия.

**Ключевые слова:** микоплазмы, уреоплазмы, обезьяны, мини-колонии, антибиотики.

## THE DETECTION OF UNUSUAL MYCOPLASMA CELLS PERSISTENT IN MONKEYS

**Rakovskaya Irina V.**, Dr. Sci. (Biol), Leading Researcher, Head of Laboratory, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (499) 190-43-68, e-mail: rakovskaya35@mail.ru.

**Arshba Ilona M.**, Cand. Sci. (Biol.), Head of Department, Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology, Research Institute of Medical Primatology, 177 Mira St., Sochi, 354376, Russia, tel.: (862) 243-20-28, e-mail: aim26@mail.ru.

**Barkhatova Olga I.**, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Levina Galina A.**, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Gorina Luiza G.**, Dr. Sci. (Biol), Leading Researcher, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (499) 190-43-68, e-mail: lugor@bk.ru.

**Gamova Nata'lya A.**, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

**Goncharova Svetlana A.**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Honorary Academician N.F. Gamalei National Research Center for Epidemiology and Microbiology, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia, tel.: (8499) 190-43-68, e-mail: info@gamaleya.org.

Long-term cooperation FSBI “Gamaleya Federal Scientific Research Center of Epidemiology and Microbiology”, Russia and Research Institute of Medical Primatology, Russia on the research of spontaneous Mycoplasma infection in different monkey species of the Adler colony showed a wide prevalence of Mycoplasma and Ureaplasma carriers. Mycoplasma isolated from the apes and forming mini-colonies are similar to those isolated from patients with various chronic pathological processes. The cells of mini-colonies are resistant to various unfavourable factors causing the death of cells of classical colonies. The cells of mini-colonies are resistant to antibiotics, which have fundamentally different mechanisms of action.

**Key words:** mycoplasma, ureaplasma, monkeys, mini-colonies, antibiotics.

**Введение.** Микоплазмы – представители класса *Mollicutes* являются мельчайшими бесстеночными, свободноживущими, полиморфными прокариотами. Человек может являться естественным хозяином многих видов микоплазм, они обитают на мукозной поверхности респираторного и урогенитального тракта. Споры о роли микоплазм в инфекционной патологии человека продолжительны, а мнения часто противоречивы, что объясняется широким распространением микоплазм среди здоровых людей и отсутствием характерных клинических симптомов, свойственных только микоплазменным инфекциям. Тем не менее убедительно доказано, что некоторые виды микоплазм являются

возбудителями заболеваний человека. *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) вызывает воспалительные процессы, связанные с хроническим и острым негонококковым уретритом (НГУ) и сопровождается выраженными клиническими проявлениями. *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) причастна к развитию воспалительных заболеваний НГУ. Описаны пороки развития плода при утробном инфицировании этой микоплазмой. *M. hominis* с высокой частотой обнаруживается во влагалище при бактериальном вагинозе. Наибольшая инфицированность *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) и *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) отмечалась при уретральном синдроме у новорожденных детей с низкой массой тела и с патологией респираторного тракта. Микоплазмы способны колонизировать клетки эпителиальных тканей макроорганизма, адсорбироваться на эритроцитах человека и животных, макрофагах, различных клетках крови. Клетки микоплазм имеют сниженные потенции к росту и размножению *in vitro*, но способны вызывать генерализованную инфекцию с длительной персистенцией в тканях и сыворотке крови [4, 5, 7, 8, 14, 18, 19].

У микоплазм отмечена длительная персистенция в инфицированных органах и тканях макроорганизма, а их антигены обнаруживают в крови и органах на протяжении месяца после клинического выздоровления, то есть для микоплазменных инфекций характерна длительная антигенемия [10, 11, 15].

Микоплазмы при росте на агаре через 24–96 часов после посева образуют колонии, напоминающие яичницу-глазунью с плотным, растущим в агар центром и нежной поверхностной ажурной периферией. Колонии микоплазм варьировали от 50 до 500 мкм. Они состоят из шаровидных тел различной оптической плотности, зернистой массы и структур, свободно лежащих или заполняющих сферические тела; нитевидных и ветвистых структур, составленных из отдельных гранул и мелких палочковидных элементов [8].

За время многолетнего сотрудничества ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» на инфицированность микоплазмами были обследованы обезьяны различных видов, самцы и самки, здоровые и больные, длительно живущие в Адлерском питомнике и недавно привезенные из мест естественного обитания.

Представление об инфицировании обезьян микоплазмами необходимо иметь в связи с тем, что эти бактерии оказывают существенное влияние на результаты вирусологических, бактериологических, биохимических, иммунологических и других исследований, проводимых с использованием приматов [1, 2, 3, 6, 12, 13, 16, 17].

Ранее из проб сыворотки крови пациентов с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, мочекаменной болезнью, хроническим бронхитом и бронхиальной астмой были выделены культуральным методом колонии микоплазм не описанного ранее морфотипа, названные «мини-колониями» (МК), в отличие от классических колоний (КК), морфотип которых хорошо известен бактериологам [4, 7, 8, 9].

Аналогичные культуры были выделены также из синовиальной жидкости при ревматоидном артрите у детей и взрослых, из образцов криоконсервированной спермы быков-производителей и из различных клеточных культур. В большинстве случаев выделенные культуры были типированы в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью видовой тест-системы как *M. hominis*, в единичных случаях – как *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) и *Mycoplasma fermentans* (*M. fermentans*). Некоторые штаммы типировать до вида не удалось, они отнесены к *Mycoplasma spp.* [10].

Клетки, образующие МК, существенно отличались от клеток КК микоплазм по своим морфологическим и физиологическим свойствам. В настоящем сообщении приведены сведения о выделении из организма обезьян микоплазм, образующих МК, аналогичные тем, которые выделяли от пациентов с различными хроническими патологическими процессами.

**Цель** настоящего исследования заключалась в выяснении возможности персистенции в организме обезьян клеток микоплазм, формирующих колонии необычного морфотипа, аналогичные тем, которые были выделены ранее из клинического материала от людей при различных патологических процессах.

**Материалы и методы исследования.** Исследованы 53 обезьяны обоего пола и разных видов: из рода макак обследовано 28 обезьян, что составило: макаки резус (*Macaca mulatta*) – 13 особей, макаки яванские (*Macaca fascicularis*) – 15 особей. Зеленых мартышек (*Chlorocebus aethiops*) обследовано 25 особей.

Определение инфицированности исследуемого клинического материала микоплазмами проводили с помощью ПЦР. Экстракцию ДНК из клинического материала проводили с использованием комплекта реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Выявление ДНК микоплазм осуществляли с помощью тест-систем (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия):

универсальной для *Mycoplasma spp.* тест-системы «Мик-Ком», тест-систем «АмплиСенс *M. hominis*», «АмплиСенс *M. genitalium*» и «АмплиСенс *M. pneumoniae*» для обнаружения ДНК конкретных видов микоплазм, а также тест-системы «АмплиСенс *Ureaplasma spp.*» для ДНК *U. urealyticum* и *U. parvum*. Реакцию проводили согласно прилагаемым к тест-системам методическим инструкциям с использованием амплификатора модели «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Методом ПЦР исследованы соскобы из урогенитального тракта у 53 обезьян.

Для культивирования микоплазм использовали коммерческие питательные среды «PPLOBroth» и «PPLOAgar» («Difco», США) с добавлением 20 % сыворотки крови лошади и 1 % L-аргинина (для *M. hominis*) и мочевины 0,05% (для *U. urealyticum* и *U. parvum*), пенициллина (100 ед/мл), индикатора роста фенолового красного (0,005 %).

Эпителиальные соскобы из урогенитального тракта всех 53 особей были исследованы также культуральным методом. Пробы сыворотки крови удалось получить только от 20 животных.

Чувствительность к антибиотикам клеток КК и МК определяли методом бумажных импрегнированных антибиотиками дисков (ООО «НИЦФ», Россия) на чашках с 1.3 агаровой средой по прописи, указанной выше. Учет производили на 4 сутки (КК) и 10–12 сутки (МК).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Данные о частоте инфицирования обезьян микоплазмами в зависимости от вида, пола и длительности проживания в питомнике опубликованы ранее [2, 3]. Укажем только, что из 53 исследованных соскобов в 19 (36 %) была обнаружена ДНК микоплазм. Из 20 проб сыворотки крови ДНК микоплазм была выявлена в 3 образцах.

При исследовании культуральным методом всех ДНК-положительных соскобов и проб сыворотки крови из 15 соскобов и одного образца сыворотки крови были выделены культуры КК, типированные как *M. hominis*. 4 штамма из соскобов и 2 из сыворотки крови типировать до вида с помощью имеющихся в распоряжении тест-систем не удалось. Они были типированы как представители рода *Mycoplasma* и обозначены как *Mycoplasma spp.*

Из эпителиальных соскобов 16 обезьян были выделены культуры уреаплазм, типировать их до вида с тест-системами к микоплазмам человека (*U. urealyticum* и *U. parvum*) не удалось. Видимо, это были собственные виды микоплазм обезьян.

В 5 случаях из соскобов были выделены необычные колонии – МК. Один из выделенных штаммов был получен от яванской макаки 8 лет с диагнозом «Бесплодие». По своим культуральным и морфологическим характеристикам МК, выделенные от обезьян, не отличались от МК микоплазм, выделенных ранее от больных людей.

Основные отличия клеток КК и МК заключаются в следующем:

1. Морфология и размер колоний. КК имеют вид яичницы-глазуньи (fried-egg) и состоят из округлых клеток различного размера и единичных палочковидных элементов. МК имеют винтообразное строение с лопастями, расходящимися из плотного центра. Лопастии состоят из плотноупакованных отдельных элементов. Диаметр КК – 100–300 мкм, МК – 7,5–9,5 мкм (рис.).

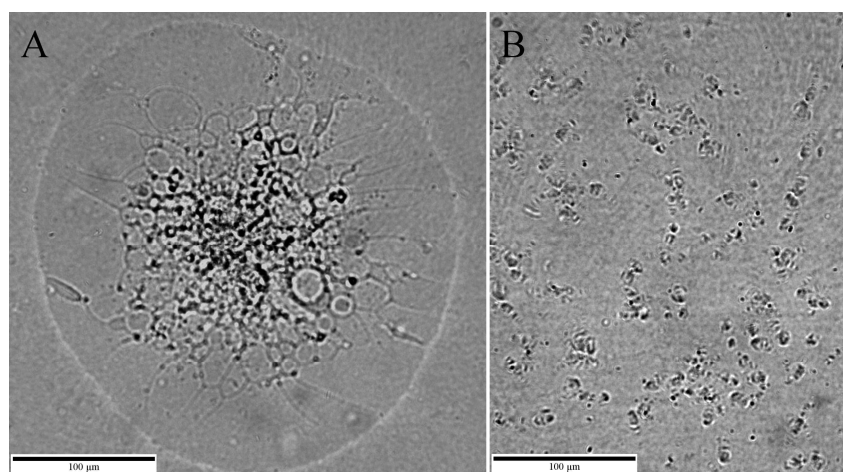


Рис. КК микоплазм (А) и МК микоплазм (В)

2. Замедленная скорость роста. КК разных видов микоплазм вырастают на поверхности агара через 24–96 часов после посева. МК становятся видимыми при увеличении  $\times 10$  на 7–9 сутки, при первичном выделении – на 12–14 сутки. МК из-за их малого размера могли быть приняты за артефакты, наряду с малым размером колоний их позднее появление на агаре является причиной их ускользания от внимания микоплазмологов.

3. Клетки МК, в отличие от КК, не разлагают ни аргинин, ни глюкозу или, возможно, разлагают столь незначительно, что это трудно уловить. По-видимому, они используют другие пути получения энергии.

4. Клетки МК устойчивы к различным неблагоприятным факторам, вызывающим гибель клеток КК.

5. Клетки МК резистентны к антибиотикам, обладающим принципиально различными механизмами действия (табл. 1).

С помощью ряда методов: прямой иммунофлюоресценции, сиквенса фрагмента ДНК 16S РНК гена, сравнительного анализа LAMPs (липид-ассоциированные мембранные белки) и данных по ПЦР с видовыми тест-системами к микоплазмам человека были получены доказательства принадлежности 5 выделенных штаммов МК к *M. hominis*.

В таблице представлены результаты испытания чувствительности клеток КК и МК *M. hominis*.

Таблица

**Чувствительность *Mycoplasma hominis* (КК и МК) к антибиотикам**

Антибиотики		<i>M. hominis</i> H-34	
Группа	Наименование	Классические колонии	Мини-колонии
Тетрациклины	Доксициклин	S	R
Фторхинолоны	Норфлоксацин	I	R
Макролиды	Кларитромицин	I	R
	Рокситромицин	S	R
	Азитромицин	I	R
	Эритромицин	R	R
Аминогликозиды	Гентамицин	S	R
	Клиндамицин	S	R
Линкомицины	Линкомицин	S	R

Примечание: S – чувствительны, I – слабочувствительны, R – не чувствительны

Несмотря на различие механизмов действия антибиотиков разных классов, клетки МК оказались устойчивыми ко всем испытанным препаратам, что позволяет предположить существование единого механизма их антибиотикорезистентности [20].

В системе *in vitro* культуры МК *M. hominis*, *M. fermentans*, *M. pneumoniae*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Acholeplasma laidlawii* были получены при воздействии неблагоприятных факторов на классическую культуру микоплазм (антител, нетермальной аргоновой плазмы, культивирования на бедной среде или длительной инкубации свыше двух недель при 37 °C) [15].

Какова же природа клеток, образующих МК? Можно было бы предположить, что они образуются из клеток КК при неблагоприятных условиях. Однако отсутствие реверсии этих культур в классическую форму при культивировании в течение длительного срока (свыше 2 лет), одновременное выявление в световом и электронном микроскопе на поверхности агара КК и зачатков МК, выделение в чистой культуре МК из дважды клонированной КК дают основания полагать, что популяция микоплазм исходно гетерогенна и состоит из клеток генетически запрограммированных на создание МК и КК.

Результаты сравнительного полногеномного секвенирования и протеомного анализа клеток классических колоний и мини-колоний позволят выявить гены и белки, определяющие изменение морфотипа, физиологических характеристик и антибиотикорезистентности клеток мини-колоний.

### Список литературы

1. Аршба, И. М. Значение урогенитальных инфекций для патологии беременности и родов в эксперименте / И. М. Аршба, Э. К. Джикидзе // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 185–188.
2. Аршба, И. М. Иммунологические показатели инфицированных урогенитальными микоплазмами обезьян / И. М. Аршба, Э. К. Джикидзе, И. В. Раковская, Л. Г. Горина, С. А. Гончарова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 5. – С. 87–90.
3. Аршба, И. М. Инфицированность микоплазмами обезьян, находящихся в условиях неволи и вновь привезенных из Танзании / И. М. Аршба, И. В. Раковская, О. И. Бархатова, Г. А. Левина, Л. Г. Горина, Н. А. Гамова, С. А. Гончарова // Астраханский медицинский журнал. – 2016. – Т. 11, № 2. – С. 64–70.

4. Бархатова, О. И. Персистенция микоплазм при мочекаменной болезни / О. И. Бархатова, Г. А. Левина, И. В. Раковская, Н. С. Мулабаев, Н. А. Гамова, Э. Р. Толордава, Ю. М. Романова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – № 4. – С. 101–106.
5. Борхсениус, С. Н. Микоплазмы в биологии и медицине начала XXI века / С. Н. Борхсениус, О. А. Чернова, В. М. Чернов, И. Е. Вишняков. – СПб. : Наука, 2016. – 332 с.
6. Джикидзе, Э. К. Спонтанные микоплазмозы обезьян / Э. К. Джикидзе, Р. И. Крылова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 12. – С. 678–683.
7. Левина, Г. А. Необычные формы персистенции *Mycoplasma hominis* в организме инфицированных людей / Г. А. Левина, О. И. Бархатова, Л. Г. Горина, Н. А. Гамова, С. А. Гончарова, Г. Г. Миллер, Т. М. Раскова, И. Н. Растегаева, Н. А. Селиверстова, И. В. Раковская // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 4. – С. 104–109.
8. Прозоровский, С. В. Медицинская микоплазмология / С. В. Прозоровский, И. В. Раковская, Ю. В. Вульфвич. – М. : Медицина, 1995. – 286 с.
9. Раковская, И. В. Биологическая характеристика клеток микоплазм, образующих колонии не известного ранее морфотипа – Мини-колонии / И. В. Раковская, Г. А. Левина, О. И. Бархатова, Л. Г. Горина, С. А. Ермолаева, Е. В. Сысолятина, Д. А. Бурмистрова, Г. Г. Миллер, А. Я. Мухачев, И. М. Аршба // Молекулярная диагностика : мат-лы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Москва, 18–20 апреля 2017 г.) / под ред. В. И. Покровского. – Тамбов : Юлис, 2017. – Т. 1. – С. 513–514.
10. Раковская, И. В. Генерализованная микоплазменная инфекция у больных и носителей / И. В. Раковская, Л. Г. Горина, Д. Н. Балабанов, Г. А. Левина, О. И. Бархатова, С. А. Гончарова, Н. А. Гамова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. – № 2. – С. 37–43.
11. Раковская И. В. Нетипичные формы микоплазм, персистирующих в организме зараженных ими людей / И. В. Раковская, О. И. Бархатова, Н. А. Гамова, С. А. Гончарова, Л. Г. Горина, Г. А. Левина, Г. Г. Миллер, Т. М. Раскова, И. Н. Растегаева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 12. – С. 35–38.
12. Раковская, И. В. Персистенция *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* в организме инфицированных животных / И. В. Раковская, Л. Г. Горина, О. И. Бархатова, Д. Н. Балабанов, С. А. Гончарова, Н. А. Гамова, Г. А. Левина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – № 4. – С. 81–85.
13. Чикобава, М. Г. Филогенетический анализ микоплазмы, выделенной от макаки яванской (*M. fascicularis*) / М. Г. Чикобава, Э. К. Джикидзе, Д. В. Задорожный, Т. И. Кебу, И. М. Аршба, В. А. Калашникова, А. А. Агумава // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2008. – № 1. – С. 23–26.
14. Bischof, D. F. Cytotoxicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type to bovine epithelial cells / D. F. Bischof, C. Janis, E. M. Vilei, G. Bertoni, J. Frey // Infect. Immun. – 2008. – Vol. 76, № 1. – P. 263–269.
15. Ermolaeva, S. A. Nonthermal plasma affects viability and morphology of *Mycoplasma hominis* and *Acholeplasma laidlawii* / S. A. Ermolaeva, I. V. Rakovskaya, G. G. Miller, E. V. Sysolyatina, A. Y. Mukhachev, M. M. Vasiliev, R. R. Adgamov, G. A. Levina, O. F. Petrov, G. E. Morfill, A. I. Grigoriev, V. E. Fortov, A. L. Gintsburg // J. Appl. Microbiol. – 2014. – Vol. 116, № 5. – P. 1129–1136.
16. Kimberly, R. P. In vivo handling of soluble complement fixing Ab/dsDNA immune complexes in chimpanzees / R. P. Kimberly, J. C. Edberg, L. T. Merriam, S. B. Clarkson, J. C. Unkeless, R. P. Taylor // J. Clin. Invest. – 1989. – Vol. 84, № 3. – P. 962–970.
17. Lo, S. C. Fatal systemic infections of nonhuman primates by *Mycoplasma fermentans* (incognitus strain) / S. C. Lo, D. J. Wear, J. W. Shih, R. Y. Wang, P. B. 3rd Newton, J. F. Rodriguez // Clin. Infect. Dis. – 1993. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. S283–288.
18. Proctor, R. A. Small colony variants : a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections / R. A. Proctor, C. von Eiff, B. C. Kahl, K. Becker, P. McNamara, M. Herrmann, G. Peters // Nat. Rev. Microbiol. – 2006. – Vol. 4, № 4. – P. 295–305.
19. Razin, S. Highlights of *Mycoplasma* research – an historical perspective / S. Razin, L. Hayflick // Biologicals. – 2010. – Vol. 38, № 2. – P. 183–190.
20. Soloveva, S. V. Detection of tetracycline- and erythromycin-resistant urogenital mycoplasma strains using PCR / S. V. Soloveva, E. G. Tsoi, N. A. Zigangirova, N. A. Gamova, I. V. Rakovskaia, A. L. Gintsburg // Journal of microbiology epidemiology and immunobiology. – 1998. – № 6. – P. 3–7.

## References

1. Arshba I. M., Dzhikidze E. K. Znachenie urogenital'nykh infektsiy dlya patologii beremennosti i rodov v eksperimente [ Significance of urogenital infections in pathology of pregnancy and delivery in experiments]. Infektsiya i immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity], 2011, vol. 1, no. 2, pp. 185–188.
2. Arshba I. M., Dzhikidze E. K. Rakovskaya I. V., Gorina L. G., Goncharova S. A. Immunologicheskie pokazateli infitsirovannykh urogenital'nymi mikoplazmami obez'yan [Immunologic parameters of monkeys infected by urogenital mycoplasmas]. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii [Journal of microbiology epidemiology and immunobiology], 2007, no. 5, pp. 87–90.

3. Arshba I. M., Rakovskaya I. V., Barkhatova O. I., Levina G. A., Gorina L. G., Gamova N. A., Goncharova S. A. Infitsirovannost' mikoplazmami obez'yan, nakhodyashchikhsya v usloviyakh nevoli i vnov' privezenykh iz Tanzanii [Mycoplasma infection in colony living monkeys and in monkeys newly imported from Tanzania]. *Astrahanskiy meditsinskiy zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2016, vol. 11, no. 2, pp. 64–70.
4. Barkhatova O. I., Levina G. A., Rakovskaya I. V., Mulabaev N. S., Gamova N. A., Tolordava E. R., Romanova Yu. M. Persistentsiya mikoplazm pri mochekamennoy bolezni [Persistence of mycoplasma during urolithiasis]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology epidemiology immunobiology], 2015, no. 4, pp. 101–106.
5. Borkhsenius S. N., Chernova O. A., Chernov V. M., Vishnyakov I. E. Mikoplazmy v biologii i meditsine nachala XXI veka [Mycoplasma in biology and medicine the beginning of the XXI century]. Saint Petersburg, Nauka [Science], 2016, 332 p.
6. Dzhikidze E. K., Krylova R. I. Spontannye mikoplazmozy obez'yan [Spontaneous simian mycoplasma infection]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 2001, vol. 132, no. 12, pp. 678–683.
7. Levina G. A., Barkhatova O. A., Gorina L. G., Gamova N. A., Goncharova S. A., Miller G. G., Raskova T. N., Rastegaeva I. N., Seliverstova N. A., Rakovskaya I. V. Neobychnye formy persistentsii Mycoplasma hominis v organizme infitsirovannykh lyudey [Unusual forms of persistence of Mycoplasma hominis in the body of infected people]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology], 2012, no. 4, pp. 104–109.
8. Prozorovskiy S. V., Rakovskaya I. V., Vul'fovich Yu. V. Meditsinskaya mikoplazmologiya [Medical mycoplasmaology]. Moscow, Medicine, 1995, 286 p.
9. Rakovskaya I. V., Levina G. A., Barkhatova O. I., Gorina L. G., Ermolaeva S. A., Sysolyatina E. V., Burmistrova D. A., Miller G. G., Mukhachev A. Ya., Arshba I. M. Biologicheskaya kharakteristika kletok mikoplazm, obrazuyushchikh kolonii ne izvestnogo ranee morfotipa – Mini-kolonii [Biological characteristics of mycoplasma cells forming the colonies of previously unknown morphotype]. *Materialy IX Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem “Molekulyarnaya diagnostika”*. Tom. 1 [Materials of IX All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation “Molecular diagnostics”. Moscow, 18–20 April, 2017]. Tambov, Yulis, 2017, vol. 1, pp. 513–514.
10. Rakovskaya I. V., Gorina L. G., Balabanov D. N., Levina G. A., Barkhatova O. I., Goncharova S. A., Gamova N. A. Generalizovannaya mikoplazmennaya infektsiya u bol'nykh i nositeley [Generalized mycoplasma infection in patients and carriers]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology], 2013, no. 2, pp. 37–43.
11. Rakovskaya I. V., Barkhatova O. I., Gamova N. A., Goncharova S. A., Gorina L. G., Levina G. A., Miller G. G., Raskova T. M., Rastegaeva I. N. Netipichnye formy mikoplazm, persistiruyushchikh v organizme zarazennykh imi lyudey [The atypical forms of mycoplasmas persisting in the organism of mycoplasma's infected persons]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Russian Clinical Laboratory Diagnostics], 2011, no. 12, pp. 35–38.
12. Rakovskaya I. V., Gorina L. G., Barhatva O. I., Balabanov D. N., Goncharova S. A., Gamova N. A., Levina G. A. Persistentsiya Mycoplasma hominis i Ureaplasma urealyticum v organizme infitsirovannykh zhivotnykh [Persistence of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in organism of infected animalis]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology epidemiology and immunobiology], 2009, no. 4, pp. 81–85.
13. Chikobava M. G., Dzhikidze E. K., Zadorozhnyi D. V., Kebu T. I., Arshba I. M., Kalashnikova V. A., Agumava A. A. Filogeneticheskii analiz mikoplazmy, vydelennoy ot makaki yavanskoy (M. fascicularis) [Phylogenetic analysis of the mycoplasma isolated from the Javanese macaque (M. fascicularis)]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya* [Molecular genetics, microbiology and Virology], 2008, no. 1, pp. 23–26.
14. Bischof D. F., Janis C., Vilei E. M., Bertoni G., Frey J. Cytotoxicity of Mycoplasma mycoides subsp. mycoides small colony type to bovine epithelial cells. *Infect Immun.*, 2008, vol. 76, no. 1, pp. 263–269.
15. Ermolaeva S. A., Rakovskaya I. V., Miller G. G., Sysolyatina E. V., Mukhachev A. Y., Vasiliev M. M., Adgamov R. R., Levina G. A., Petrov O. F., Morfill G. E., Grigoriev A. I., Fortov V. E., Gintsburg A. L. Nonthermal plasma affects viability and morphology of Mycoplasma hominis and Acholeplasma laidlawii // *J. Appl. Microbiol.*, 2014, vol. 116, no. 5, pp. 1129–1136.
16. Kimberly R. P., Edberg J. C., Merriam L. T., Clarkson S. B., Unkeless J. C., Taylor R. P. In vivo handling of soluble complement fixing Ab/dsDNA immune complexes in chimpanzees. *J. Clin. Invest.*, 1989, vol. 84, no. 3, pp. 962–970.
17. Lo S. C., Wear D. J., Shih J. W., Wang R. Y., Newton P. B. 3rd, Rodriguez J. F. Fatal systemic infections of nonhuman primates by Mycoplasma fermentans (Incognitus Strain). *Clin. Infect. Dis.*, 1993, vol. 17, Suppl. 1, pp. S283–288.
18. Proctor R. A., von Eiff C., Kahl B. C., Becker K., McNamara P., Herrmann M., Peters G. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2006, vol. 4, no. 4, pp. 295–305.

19. Razin S., Hayflick L., Highlights of Mycoplasma research – an historical perspective. *Biologicals*. 2010, vol. 38, no. 2, pp. 183–190.

20. Soloveva S. V., Tsoi E. G., Zigangirova N. A., Gamova N. A., Rakovskaia I. V., Gintsburg A. L. Detection of tetracycline- and erythromycin-resistant urogenital mycoplasma strains using PCR. *Journal of microbiology epidemiology and immunobiology*, 1998, no. 6, pp. 3–7.

03.02.03 – Микробиология (медицинские науки)

УДК 615.451:615.076

DOI 10.17021/2019.14.4.52.60

© Н.А. Сальникова, Ю.В. Шур, А.А. Цибизова, Д.А. Коновалов, 2019

## **СКРИНИНГ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ АСТРАГАЛА ЛИСЬЕГО (ASTRAGALUS VULPINUS WILLD.)**

**Сальникова Наталья Алексеевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-903-349-31-34, e-mail: natalya-salnikova-81@mail.ru.

**Шур Юлия Владимировна**, ассистент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-905-480-94-87, e-mail: flora-888@mail.ru.

**Цибизова Александра Александровна**, старший преподаватель кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: 8-927-282-11-08, e-mail: sasha3633@yandex.ru.

**Коновалов Дмитрий Алексеевич**, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 357532, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11, тел.: 8-928-351-93-49, e-mail: d.a.konovarov@pmedpharm.ru.

Исследование посвящено изучению противомикробной активности экстракта травы Астрагала лисьего (*Astragalus vulpinus Willd.*) в условиях *in vitro* в отношении 6 штаммов микроорганизмов методом последовательных разведений и диффузии в агар. Установлено, что наиболее чувствительными микроорганизмами к экстракту *Astragalus vulpinus Willd.* явились: *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus aerogenes*. Антимикробный эффект в отношении грамотрицательных микроорганизмов оказался более выраженным по сравнению с грамположительными, что проявлялось бактериостатическим действием на *Staphylococcus aureus* и бактерицидным – на штаммы *Enterococcus aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*.

**Ключевые слова:** Астрагал лисий, растительный экстракт, условно-патогенные микроорганизмы, бактерицидный эффект, бактериостатический эффект.

## **SCREENING OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ASTRAGALUS VULPINUS WILLD. HERB EXTRACT**

**Sal'nikova Natal'ya A.**, Cand. Sci (Biol.), Associate professor of Department, Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russia, tel.: 8-903-349-31-34, e-mail: natalya-salnikova-81@mail.ru.

**Shur Yuliya V.**, Assistant, Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russia, tel.: 8-905-480-94-87, e-mail: flora-888@mail.ru.

**Tsibizova Aleksandra A.**, Senior teacher of department, Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya St., Astrakhan, 414000, Russia, tel: 8-927-282-11-08, e-mail: sasha3633@yandex.ru.

**Konovarov Dmitriy A.**, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Head of Department, Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd Medical State University, 11 pr. Kalinina, Pyatigorsk, Pyatigorsk, 357532, Russia, tel: 8-928-351-93-49, e-mail: d.a.konovarov@pmedpharm.ru.