

ГАНИНА
Екатерина Борисовна

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
***STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЗДОРОВЫХ**
ШКОЛЬНИКОВ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

1.5.11. Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Тверь — 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, доцент

Червинец Юлия Вячеславовна
Шестакова Валерия Геннадьевна

Официальные оппоненты:

Ипполитов Евгений Валерьевич — доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, профессор кафедры

Чеботарь Игорь Викторович — доктор медицинских наук, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатория молекулярной микробиологии, заведующий

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2021 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 64.1.004.01 при федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10, <http://www.gabrich.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 года

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Борисова Ольга Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время стафилококковые инфекции — актуальная медицинская и социальная проблема не только российского, но и мирового здравоохранения. Это обусловлено постоянно растущей частотой встречаемости инфекций, ассоциированных с золотистым стафилококком, повсеместным его распространением, мультирезистентностью штаммов к антибиотикам, а также причинением значительного вреда здоровью и нанесением существенного социально-экономического ущерба (Карпов И.А. с соавт., 2006; Жилина С.В. с соавт., 2009; Бакшеева С.С. с соавт., 2015; Бармакова А.М. с соавт., 2016). Распространение инфекционных заболеваний, вызываемых представителями рода *Staphylococcus*, постоянно возрастает во всех странах мира (Archer N. K. et. al., 2011; Gil C. et. al., 2014; Бакшеева С.С. с соавт., 2015; Баймуратова М.А. с соавт., 2016; Вахидова М.А. с соавт., 2016; Бармакова А.М. с соавт., 2016; Сергеев А.Ю. с соавт., 2019) в частности, неуклонно растёт клиническая значимость золотистого стафилококка в этиологии заболеваний, в том числе у детей (Кудрявцева А.В. с соавт., 2012; Павлова И.Ж. с соавт., 2013; Бедин П.Г. с соавт., 2014; Карпова Е.П. с соавт., 2017).

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) подразумевается чаще всего, когда речь идет о возбудителе стафилококковой инфекции. Однако золотистый стафилококк часто входит в состав нормальной микробиоты человека, который становится бактерионосителем (Ошурков М.А., 2015; Милюкова С.А. с соавт., 2016).

Многочисленные публикации свидетельствуют о постоянном росте частоты встречаемости *S. aureus*, прежде всего среди детей школьного возраста (Буслаева Г.Н., 2005; Николаева И.В. с соавт., 2010; Rhee Y. et. al., 2015; Иванова Е.И. с соавт., 2017).

Штаммы *S. aureus* обладают разнообразными факторами патогенности, наличие которых кодируется специфическими генами (Kaplan J. B., 2010; Mulcahy M. E. et. al., 2012; Гриценко В.А. с соавт., 2018; Карташова О.Л. с соавт., 2018). Золотистый стафилококк способен, используя широкий спектр адаптационных возможностей, колонизировать и поражать различные ткани и органы, вызывая развитие тяжёлых инфекционных заболеваний, которые могут привести к летальному исходу (Middleton J. R., 2008; Yuan S. et. al., 2011; Панченко А.В., 2011; Флуер Ф.С., 2012).

Стафилококковое носительство имеет большое клиническое значение. Бактерионосители часто являются скрытыми источниками инфекции, также опасность представляет возможный переход данного микроорганизма во внутреннюю среду макроорганизма и может повлечь развитие гнойно-воспалительных заболеваний (Wertheim H. F. et. al., 2005; van Rijen M. M. et. al., 2008; Биль Б.Н., 2012; Зверев А.Ф., 2013). Золотистый стафилококк может персистировать годами как условно – патогенный микроорганизм (УПМ), не давая о себе знать, однако, при изменении условий способен нанести существенный ущерб здоровью. В связи с этим наиболее опасны бактерионосители, наличие *S. aureus* у которых неочевидно, особенно, если они по роду своей деятельности (например, медицинские работники, сотрудники пищевых производств и др.) контактируют с большим количеством людей.

Степень разработанности темы исследования. Исследования показали, что нарастающий антропогенный прессинг отрицательно сказывается не только на общем состоянии здоровья детей (Маянский А.Н. с соавт., 2004; Несмеянова Н.Н. с соавт., 2009; Бакшеева С.С., 2011), но и приводит к качественному и количественному изменению микробиоты (Зверев А.Ф., 2013; Уткина Т.М. с соавт., 2015). Вследствие этого штаммы *S. aureus* становятся более «агрессивными» по отношению к макроорганизму и из разряда УПМ могут перейти в группу патогенных бактерий. Так, по мнению ряда авторов, процент постоянных носителей золотистого стафилококка увеличивается после химического загрязнения окружающей среды (Бакшеева С.С., 2011; Уткина Т.М. с соавт., 2015).

Исследования, касающиеся изучения распространённости бактерионосительства *S. aureus* среди здоровых детей 7–11 лет, в настоящее время носят разрозненный характер. В доступной для работы литературе имеется информация лишь по некоторым субъектам Российской Федерации, по Тверской области данные отсутствуют. Как правило, научные работы связаны с выявлением взаимосвязи уровня бактерионосительства золотистого стафилококка у детей и антропогенной нагрузкой в месте их проживания (Зверев А.Ф., 2013; Бакшеева С.С. с соавт., 2015; Ошурков М.А., 2015). Однако, определение распространённости *S. aureus* именно среди здоровых детей даёт возможность оценить не только экологическую обстановку, но и судить в какой-то мере о состоянии иммунологического статуса детей, который является составляющей «эндоэкологического статуса» (Бакшеева С.С., 2011).

Таким образом, крайне актуальным является изучение спектра и частоты встречаемости микроорганизмов верхних дыхательных путей, в том числе *S. aureus*, у практически здоровых школьников 7–11 лет, проживающих в разных регионах РФ, на примере Тверской области. Изучение биологических свойств *S. aureus*, выделенных от здоровых детей 7–11 лет, также представляет собой не менее важную научную задачу, что обусловлено потенциальной опасностью данного микроорганизма. Так, в нашем эксперименте на белых крысах была показана способность штамма *S. aureus*, выделенного от здорового ребёнка, вызывать стафилококковый стоматит.

Цель исследования. Охарактеризовать биологические свойства *Staphylococcus aureus*, выделенных от здоровых школьников 7–11 лет, проживающих в Тверской области, и определить потенциальную способность золотистого стафилококка вызвать бактериальный стоматит в эксперименте на белых крысах.

Задачи исследования:

1. Выделить и идентифицировать микробиоту слизистой оболочки верхних дыхательных путей, определить частоту выявления и количество *S. aureus* у здоровых школьников Тверской области.

2. Охарактеризовать патогенные свойства штаммов *S. aureus* (антагонистическая активность, резистентность к антимикробным препаратам, наличие факторов патогенности, степень адгезии, спектр газовых сигнальных молекул), выделенных со слизистой оболочки верхних дыхательных путей здоровых школьников Тверской области.

3. Создать модель стафилококкового стоматита с изучением его микробиологической и гистологической картины в эксперименте на белых крысах.

4. Оценить эффективность применения пробиотических штаммов лактобацилл для коррекции бактериального стоматита, вызванного *S. aureus* в эксперименте на белых крысах.

Научная новизна исследования. В результате проведённых исследований получены данные о спектре, частоте встречаемости и количестве микробиоты верхних дыхательных путей здоровых детей 7–11 лет, проживающих в г. Твери и г. Торжке Тверской области. Выявлен высокий процент бактерионосительства *S. aureus*: в носу частота выявления составила 45 % — г. Тверь, 80 % — г. Торжок, в зеве — 55 % — г. Тверь, 20 % — г. Торжок. Установлено, что все выделенные штаммы *S. aureus* обладают широким спектром патогенных свойств (высокая и средняя антагонистическая активность по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам; наличие лецитиназной, коагулазной, гемолитической и казеинолитической активностей; высокая степень адгезии; наличие в основном продукции NO и H₂S; устойчивость к антимикробным препаратам), который обуславливает их потенциальную опасность и способность вызывать гнойно-воспалительные заболевания.

В эксперименте показана возможность развития бактериального стоматита у лабораторных животных вследствие воздействия штамма *S. aureus*, выделенного со слизистой оболочки зева здорового ребёнка, что подтверждено микробиологическими и гистологическими исследованиями. На первом этапе эксперимента на белых беспородных крысах была воспроизведена модель травматического стоматита путём обработки ротовой полости всех животных 9 % уксусной кислотой (УК). На втором этапе на основе травматического стоматита впервые был смоделирован стафилококковый стоматит, в результате обработки полости рта крыс штаммом *S. aureus*, выделенным от клинически здорового школьника г. Твери.

Впервые были подробно описаны динамические изменения микробиологической и гистологической картины экспериментального травматического и бактериального (стафилококкового) стоматита. Определены спектр, частота встречаемости и количество микробиоты слизистой оболочки полости рта здоровых крыс и крыс, страдающих травматическим или стафилококковым стоматитом, в процессе и после лечения стоматита пробиотическими штаммами *L. fermentum* и *L. rhamnosus*, обладающими высоким пробиотическим потенциалом и антагонистической активностью по отношению к *S. aureus*.

Теоретическая и практическая значимость исследования. В результате проведённых исследований изучены спектр, частота выявления и количество микробиоты верхних дыхательных путей здоровых детей от 7 до 11 лет, проживающих в Тверской области. Получены новые данные, которые дополняют современные представления о распространённости *S. aureus* в составе микробиоценоза верхних дыхательных путей у здоровых школьников, что, в свою очередь, позволяет оценить уровень бактерионосительства золотистого стафилококка у детей, проживающих на территории Российской Федерации.

Результаты исследования биологических свойств региональных штаммов *S. aureus*, выделенных от здоровых детей, могут быть использованы с целью расширения сведений

об этиологии и патогенезе ряда заболеваний полости рта и верхних дыхательных путей. Изучение биологических свойств штаммов *S. aureus*, изолированных со слизистых оболочек верхних дыхательных путей практически здоровых детей г. Твери и г. Торжка Тверской области, выявило их потенциальную опасность (способность вызывать развитие стоматита) как для самих здоровых бактерионосителей, так и для окружающих.

Разработанный способ моделирования бактериального стоматита в эксперименте на крысах дал возможность оценить целесообразность коррекции этого заболевания штаммами лактобацилл с высокой антагонистической активностью, которые оказывают влияние на *S. aureus* как одну из основных причин, вызывающих стоматит.

Доказана эффективность коррекции стафилококкового стоматита штаммами высокоактивных лактобацилл (*L. fermentum*, *L. rhamnosus*), которые были выделены из полости рта здоровых людей и могут быть рассмотрены в качестве кандидатов при разработке эффективных пробиотических препаратов, направленных на лечение и профилактику воспалительных заболеваний ротовой полости и носоглотки.

Созданная модель стафилококкового стоматита может быть использована для изучения поражений полости рта, вызванных другими микроорганизмами.

Результаты проведенных исследований послужили основой зарегистрированных баз данных:

- 1) «Микроорганизмы, выделенные из полости рта здоровых крыс и больных бактериальным стоматитом на различных этапах лечения» (свидетельство о государственной регистрации №2018620494, дата регистрации 27 марта 2018 г.);
- 2) «Газовые сигнальные молекулы, выделенные лактобациллами и стафилококками от здоровых детей разных возрастных групп» (№2020620656, 09 апреля 2020 г.);
- 3) «Чувствительность к антибиотикам стафилококков, выделенных из различных биотопов здоровых детей» (№2020620654, 09 апреля 2020 г.).

Материалы диссертации внедрены в образовательный процесс кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии (акт внедрения от 03.03.2021 г.) и кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии (акт внедрения от 11.03.2021 г.) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации; кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 19.03.2021 г.).

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования разработана согласно поставленной цели и задачам. Работа выполнена на базе кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии и кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России. Исследование с участием детей проводилось согласно разрешению Этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол от 30 ноября 2015 г., протокол от 29 октября 2018 г.). Эксперименты

на животных проводились в соответствии с разрешением Этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол от 29 октября 2018 г.).

Предмет исследования — микроорганизмы ВДП здоровых школьников 7–11 лет, проживающих в г. Твери и г. Торжке Тверской области. **Объект изучения** — отделяемое из полости носа и зева здоровых школьников Тверской области. Исследование включало 2 этапа. На первом этапе от здоровых детей была выделена и идентифицирована микробиота верхних дыхательных путей, а также были изучены биологические свойства изолированных штаммов *S. aureus*. На втором этапе для оценки биологических свойств золотистого стафилококка *in vivo* была создана экспериментальная модель бактериального стоматита на белых крысах с использованием *S. aureus*, выделенного от здорового ребёнка; затем крыс лечили культурами *Lactobacillus spp.*, изолированными от здоровых людей; далее были изучены микробиологическая и гистологическая картины полости рта крыс.

Группы обследуемых детей. Для исследования осуществлялся забор материала из носовой полости и зева у 96 клинически здоровых школьников (47 детей г. Твери и 49 детей г. Торжка в возрасте 7–11 лет), проживающих в Тверской области. Забор материала осуществлялся в осенне-зимний период. На момент обследования у всех детей не было жалоб, признаки воспаления носоглотки и верхних дыхательных путей отсутствовали, все дети не имели в анамнезе инфекционных и соматических заболеваний ВДП.

Критерии включения: дети в возрасте от 7 до 11 лет при отсутствии у них острых заболеваний ротовой полости и верхних дыхательных путей, а также обострений хронических заболеваний.

Критерии исключения: наличие у детей острых заболеваний ротовой полости и верхних дыхательных путей, а также обострений хронических заболеваний; прием антибиотиков менее чем за 7 дней до забора материала.

Типовые штаммы. В работе для изучения антагонистической активности штаммов *S. aureus*, изолированных от детей, к тестовым культурам было использовано 6 типовых коллекционных штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922 из государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им. Л.А. Тарасевича, *Salmonella enterica* Typhimurium 415, *Shigella sonnei* I фазы 941 из коллекции культур НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, *Bacillus subtilis* 534 из коллекции МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского.

Для коррекции стафилококкового стоматита использовали задепонированные культуры лактобацилл (концентрация $1,5 \times 10^8$ клеток/мл по McFarland) — *Lactobacillus* 11 зв. (*L. fermentum*), *Lactobacillus* 2 п. рта (*L. fermentum*), *Lactobacillus* 24 д. ст. (*L. rhamnosus*), а также комбинацию всех трёх культур лактобацилл (*Lactobacillus mix*). Данные штаммы лактобацилл, обладающие высокой антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, были изолированы из полости рта здоровых людей в учебно-научной бактериологической лаборатории кафедры микробиологии Тверского ГМУ и задепонированы в следующих коллекциях:

1) Штамм *Lactobacillus* 11 зв. — «Штамм бактерий *Lactobacillus fermentum*, обладающий широким спектром антагонистической активности по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам», №2627164, от 03 августа 2017 г.; Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (ВКПМ) ФГУП ГосНИИгенетика, регистрационный номер ВКПМ: В-12597, от 14 апреля 2016 г.;

2) Штамм *Lactobacillus* 2 п. рта (*Lactobacillus Lactobacillus fermentum* 2) — Государственная коллекция микроорганизмов нормальной микрофлоры (ГКНМ) ФГУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» от 29 марта 2010 г., коллекционный №309;

3) Штамм *Lactobacillus* 24 д. ст. (*Lactobacillus* 24 дс.) — «Штамм бактерий *Lactobacillus rhamnosus*, обладающий широким спектром антагонистической активности по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам», №2627166, от 03 августа 2017 г.; Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (ВКПМ) ФГУП ГосНИИгенетика, регистрационный номер ВКПМ: В-12596, от 14 апреля 2016 г.

Лабораторные животные. Эксперимент проводился на 150 самках беспородных белых крыс массой 230–250 г. Все животные содержались в виварии в одинаковых условиях. Эксперименты проводились в соответствии с Международными рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, Geneva, 1985; Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов (Strasbourg, 1986 г.); методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987 г.). Животные выводились из эксперимента согласно Приказу №742 от 13.11.1984 г. «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

1 Микробиологические методы

1.1 Питательные среды

Аэробные и анаэробные микроорганизмы изучались после их посева на отечественные и импортные питательные среды. Для транспортировки микробиологический материал помещался в полужидкую транспортную среду Эймса (Amies, «HiMedia») и отправлялся в лабораторию. Для длительного хранения культур использовались криопробирки с ТСБ (TSB: Difco Laboratories, Detroit, Mich.) в морозильной камере, температурный режим минус 80 °С.

1.2 Выделение чистой культуры микроорганизмов

Осуществлялось стандартное бактериологическое исследование материала из зева и носа школьников для определения спектра и распространённости микроорганизмов ВДП, в частности *S. aureus*, а также их количественных показателей. В стерильных условиях было проведено взятие мазков из полости носа и зева стерильными ватными тампонами. Затем в лаборатории в изотоническом растворе NaCl (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6}) сделана расфасовка исследуемого материала, который был посеян на плотные питательные среды. Культивирование осуществлялось в анаэробных, микроаэрофильных и аэробных условиях. Инкубирование проводилось в термостате (37 °С) в течение 24–72 часов. Далее с помощью классических методов изучались культуральные, морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов, а также проводился подсчёт числа колониеобразующих единиц (КОЕ) каждого типа колоний и пересчёт КОЕ на 1 мл исследуемого материала.

1.3 Биохимическая идентификация чистой культуры микроорганизмов

Для биохимической идентификации были применены тест-системы api[®] (Bio Mérieux, France) и программное обеспечение API WEB для ПК.

1.4 Определение антагонистической способности *Staphylococcus aureus* методом перпендикулярных штрихов

Для изучения антагонистической активности золотистого стафилококка был применён метод прямого антагонизма (Блинкова Л.П., 2003). Суточная культура *S. aureus* помещалась на плотную питательную среду ЖСА (желточно-солевой агар) в центральную часть дна чашки Петри петлёй в 2 мм в концентрации 1×10^9 (ОСМ по McFarland) в виде прямой полосы. Антагонистическая активность *S. aureus* к тест-культурам определялась путём их перпендикулярного подсева. В роли тестовых культур выступили: *S. aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* Typhimurium 415, *Shigella sonnei* I фазы 941, *Bacillus subtilis* 534.

1.5 Определение факторов патогенности *Staphylococcus aureus*

Проведено определение наличия лецитиназной, коагулазной, гемолитической активности (Никитин В.М., 1986) у золотистого стафилококка, а так же казеинолитической активности экспресс-методом «Способ определения казеинолитической активности микроорганизмов при экспресс-диагностике дисбактериоза кишечника» (Червинец В.М. с соавт., патент РФ на изобретение № 2235324, 2004 г.).

1.6 Определение адгезивной способности *Staphylococcus aureus*

Степень адгезии золотистого стафилококка определяли с помощью среднего показателя адгезии (СПА) по модифицированному методу «Способ определения адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистой оболочки полости рта и клеточной линии Нер-2» (Червинец В.М. с соавт., патент РФ на изобретение № 2016111680, 2016).

1.7 Определение чувствительности *Staphylococcus aureus* к антимикробным препаратам

Применялся стандартный метод серийных микроразведений с учётом стандартов Института клинических и лабораторных стандартов, EUCAST, США (МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2004). Были использованы следующие антимикробные вещества: оксациллин, ванкомицин, гентамицин, эритромицин, тетрациклин, ципрофлоксацин, рифампицин, клиндамицин, мупирацин, хлорамфеникол, фузидиевая кислота (MOLEKULA, United Kingdom).

1.8 Определение газовых сигнальных молекул (H_2 , O_2 , N_2 , CO , CH_4 , CO_2 , NO , H_2S), выделяемых *Staphylococcus aureus*

Был использован метод газовой хроматографии в приборе Хроматэк-кристалл 5000.2. Количество выделенных газов измерялось в ppm (от англ. *parts per million*, — «частей на миллион»), млн⁻¹ или мд. $1 \text{ mg/mL} = 1000 \text{ ppm}$, $1 \text{ ppm} = 0.001 \text{ mg/mL}$.

2. Гистологические методы

Изготовление гистологических препаратов проводилось по стандартной методике (Волкова О.В., 1982).

3. Статистические методы

Для сбора, хранения и обработки всей полученной информации была создана компьютерная база данных в программе Microsoft[®] Office[®] Excel[®] 2016 (Microsoft

Corporation, Tulsa, USA) и IBM® SPSS® Statistics 23.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). Величины необходимых размеров выборок определены при помощи модулей Sample size программ COMPARE2 3.85 и DESCRIBE 3.18 пакета WinPEPI© 11.65 (J.H. Abramson) для минимально значимых различий и величин переменных, полученных в пилотных исследованиях и взятых из научной литературы, при пороговой величине доверительной вероятности равной 5 % и пороговой статистической мощности 80 %.

Для сравнения качественных переменных использован точный тест Фишера и попарное сравнение категорий с расчётом отношения правдоподобия с поправкой на множественность сравнений Сидак. При анализе количественных переменных проводилось вычисление среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (m). Оценка статистической значимости была сделана с помощью дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки. При сравнении повторных измерений использовался дисперсионный анализ повторных измерений (след Пиллаи). Данные считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Личное участие автора в получении результатов. Автором лично осуществлён выбор дизайна исследования, анализ научной литературы по изучаемой теме, постановка и проведение эксперимента. Анкетирование законных представителей школьников, работа с лабораторными животными, гистологические исследования, анализ и обобщение результатов работы, и их представление в виде публикаций и докладов на конференциях проводились диссертантом лично.

Отбор школьников по критериям включения/исключения и забор материала для исследования осуществлялся совместно с врачом-педиатром ГБУЗ «Клиническая детская больница №2» г. Твери О. А. Петровой. Посев, выделение чистой культуры из собранного материала, изучение биологических свойств *S. aureus* проводились на базе учебно-научной бактериологической лаборатории ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России совместно с лаборантом кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Л. Ф. Червинец. Создание электронных баз данных осуществлялось совместно с ассистентом кафедры физики, математики и медицинской информатики ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России А. Н. Масловым. Статистическая обработка данных проводилась совместно с к.м.н., доцентом кафедры общественного здоровья, организации, управления и экономики здравоохранения ФГБОУ ВО Тверской ГМУ А. А. Родионовым.

Положения, выносимые на защиту

1. Штаммы *Staphylococcus aureus*, входящие в состав нормобиоты слизистой оболочки верхних дыхательных путей здоровых школьников 7-11 лет, проживающих в Тверской области, обладают потенциально опасными биологическими свойствами, которые позволяют золотистому стафилококку длительно бессимптомно персистировать в организме и вызывать гнойно-воспалительные заболевания полости рта бактериальной природы.

2. Штамм *Staphylococcus aureus*, изолированный от здорового ребёнка, в эксперименте на белых крысах способен вызвать развитие стафилококкового стоматита, для эф-

фективной коррекция которого целесообразно использование культур *L. fermentum* и *L. rhamnosus*, обладающих высоким антагонистическим и пробиотическим потенциалом.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность полученных результатов основана на большом объёме микробиологического и гистологического материала; современных и адекватных методах сбора, обработки информации и методах исследования, соответствующих цели и задачам диссертации; использовании сертифицированного оборудования и пакета прикладных компьютерных программ.

Данные диссертационной работы были получены в ходе одномоментного поперечного исследования (из полости носа и зева 96 школьников выделено и идентифицировано 523 штамма аэробных и анаэробных микроорганизмов, в том числе 112 штаммов *S. aureus*), а также серий экспериментов при необходимом объёме выборки (150 беспородных белых крыс). Результаты проанализированы и сопоставлены с данными других исследователей. Оценка достоверности выявленных различий проводилась с помощью соответствующих статистических критериев.

Первичная научная документация проверена комиссией (акт проверки от 24.02.2021 г.). Работа выполнена в рамках НИР «Микробиота различных биотопов взрослого населения Тверской области при воспалительных и эрозивных заболеваниях полости рта и желудочно-кишечного тракта», регистрационный номер АААА-А16-116112260013-0, дата регистрации 22 ноября 2016 г.

Диссертация апробирована на межкафедральном заседании кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, кафедры биологии, кафедры основ общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины, кафедры анатомии, кафедры патологической анатомии, кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол №1 от 26.02.2021 г.).

Основные материалы и результаты исследований доложены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях: I межвузовской научно-практической конференции молодых учёных «Молодёжь и медицинская наука» (Тверь, ноябрь 2013 г.); II межвузовской научно-практической конференции молодых учёных «Молодёжь и медицинская наука» (Тверь, ноябрь 2014 г.); 61-й межвузовской научной конференции студентов и молодых учёных «Молодёжь, наука, медицина» (Тверь, апрель 2015 г.); Всероссийской научной конференции «Экологические аспекты морфогенеза» (Воронеж, ноябрь 2015 г.); XVI международной конференции студентов и молодых учёных «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, ноябрь 2016 г.); IV межвузовской научно-практической конференции молодых учёных «Молодёжь и медицинская наука» (Тверь, ноябрь 2016 г.); XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва, март 2017 г.); V межвузовской научно-практической конференции молодых учёных «Молодёжь и медицинская наука» (Тверь, ноябрь 2017 г.); VII Международном молодёжном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения» (Санкт-Петербург, декабрь 2017 г.); Международной научно-практической конференции «Современная стоматология от традиций к инновациям» (Тверь, ноябрь 2018 г.); Национальной конференции с международным участием «Актуальные проблемы ветери-

нарной морфологии и высшего зооветеринарного образования», посвящённой 100-летию со дня рождения профессора И.В. Хрусталёвой (Москва, октябрь 2019 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 6 статей в рецензируемых изданиях, 4 тезисов – в рецензируемых изданиях, 11 тезисов — в материалах конференций, зарегистрировано 3 Базы данных.

Объем и структура диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, 2 глав результатов собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы, приложения, благодарности. Материалы диссертационной работы изложены на 136 страницах компьютерного текста и иллюстрированы 16 рисунками и 13 таблицами. Библиографический указатель включает 201 наименование, из них 134 отечественных и 67 зарубежных источника литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика микробиоты верхних дыхательных путей здоровых детей

г. Твери и Тверской области

Изучение микробиоты, изолированной со слизистых оболочек ВДП здоровых школьников, проводили на примере двух городов — г. Твери и г. Торжка. Выбор городов связан с их различиями, которые в свою очередь влияют на нормобиоту ВДП. Тверь — областной город, крупный промышленный центр России и транспортный узел. Неблагоприятная экологическая обстановка (прежде всего, загрязнение почвы и поверхностных вод) объясняется наличием промышленных предприятий в г. Твери и в соседней — Московской области. Торжок — промышленный и туристический центр Тверской области. Основными источниками загрязнения атмосферы являются предприятия города. Отрицательно влияет на чистоту воздуха обоих городов автомобильный транспорт.

Бактериологическое исследование двух биотопов проводили одновременно у одних и тех же детей. Из полости носа и зева 96 школьников было выделено и идентифицировано 523 штамма аэробных и анаэробных микроорганизмов: 281 – от детей г. Твери и 242 — от детей г. Торжка (Таблица 1).

Таблица 1 — Видовой состав резидентной микробиоты верхних дыхательных путей здоровых детей г. Твери и г. Торжка

№	Вид микроорганизма	Количество штаммов ед. / %			
		г. Тверь		г. Торжок	
		полость носа	зев	полость носа	зев
1.	<i>Staphylococcus spp.</i>	59/58	42/42	60/67	29/33
2.	в том числе <i>Staphylococcus aureus</i>	26/45	32/55	43/80	11/20
3.	<i>Streptococcus spp.</i>	24/35	44/65	4/8	44/92
4.	<i>Lactobacillus spp.</i>	3/18	14/82	0	8/100
5.	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	15/37	25/63	31/55	25/45
6.	<i>Peptococcus spp.</i>	15/60	10/40	19/76	6/24
Всего		116/46	135/54	114/51	112/49
		251/53		226/47	

Самыми распространенными были аэробы – стафилококки (190 штаммов) и стрептококки (116 штаммов). Из анаэробов наиболее часто встречались пептострептококки (96 штаммов) и пептококки (50 штаммов). Представители *Bacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, сем. *Enterobacteriaceae*, *Candida spp.*, *Actinomyces spp.*, *Veillonella spp.* и *Bifidobacterium spp.* высевались в единичных случаях.

К виду *S. aureus* из 190 штаммов стафилококков принадлежали 112, из них биохимически идентифицированы как *S. aureus* — 69 штаммов из полости носа (45% – г. Тверь, 80% – г. Торжок) и 43 штамма из зева – 55% – г. Тверь, 20% – г. Торжок). Золотистый стафилококк по количественным показателям преобладает в полости носа у школьников г. Торжка — 3,3 lg КОЕ/мл, (г. Тверь – 3,0 lg КОЕ/мл). В зеве напротив, у детей г. Твери в 2 раза больше — 2,0 lg КОЕ/мл, чем г. Торжка — 0,8 lg КОЕ/мл.

Характеристика биологических свойств штаммов *Staphylococcus aureus*

Все штаммы золотистого стафилококка, изолированные от школьников Тверской области, выглядели как грамположительные неподвижные бактерии правильной шаровидной формы, диаметром 0,5–1,5 мкм, образующие скопления в виде гроздьев винограда.

Для дальнейшего исследования были взяты 16 штаммов *S. aureus*, выделенных из полости носа и зева детей г. Твери и 15 штаммов от школьников г. Торжка, которые проявили высокую активность по отношению к УПМ и патогенным микроорганизмам: *Staphylococcus aureus* 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella enterica* Typhimurium 415, *Shigella sonnei* I фазы 941, *Bacillus subtilis* 534, *Escherichia coli* ATCC 25922.

Золотистые стафилококки, выделенные от детей г. Твери, проявляли в основном низкую и среднюю антагонистическую активность по отношению к патогенным и УПМ, а от школьников г. Торжка – в основном среднюю.

Биохимическая активность 31 антагонистически активного штамма *S. aureus*, выделенных от детей г. Твери и Торжка определялась по 20 параметрам тест-системы api[®] Staph bioMérieux Vitek, Inc. Все штаммы, выделенные от школьников г. Твери и г. Торжка, расщепляли следующие субстраты: D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, D-Maltose, Potassium nitrate, β -naphthyl phosphate, D-Saccharose, L-arginine; и не расщепляли: Xylitol, D-Melibiose, D-Raffinose, D-Xylose.

Факторы патогенности *Staphylococcus aureus*

Штаммы золотистого стафилококка, изолированные от школьников г. Твери, характеризовались лецитиназной, коагулазной и казеинолитической активностью, а штаммы от детей г. Торжка дополнительно проявляли гемолитическую активность. Лецитиназная активность определялась у 100 % штаммов *S. aureus*, выделенных от школьников г. Твери и г. Торжка. Коагулазной активностью обладали 100 % штаммов *S. aureus* (г. Тверь) и 93 % (г. Торжок). Гемолитическая активность не обнаружена у штаммов *S. aureus*, изолированных от детей в г. Твери, а у школьников из г. Торжка составляет 93%. Казеинолитическая активность *S. aureus* определялась у 19 % штаммов (г. Тверь) и у 93 % — (г. Торжок).

Адгезивная способность *Staphylococcus aureus*

Золотистые стафилококки, изолированные от детей из г. Твери и г. Торжка, обладали в основном высокой степенью адгезии. СПА *S. aureus*, выделенных от детей г. Твери, колебал-

ся от 4,6 до 12,6 и в среднем был равен $6,81 \pm 0,59$, а от детей г. Торжка находился в интервале 3,64 — 15,16, и в среднем составил $8,1 \pm 0,95$.

Отношение *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам

Исследовано отношение 16 штаммов *S. aureus*, выделенных от детей г. Твери, и 15 штаммов *S. aureus*, изолированных от школьников г. Торжка, к 11 антибиотикам (Рисунок 1).

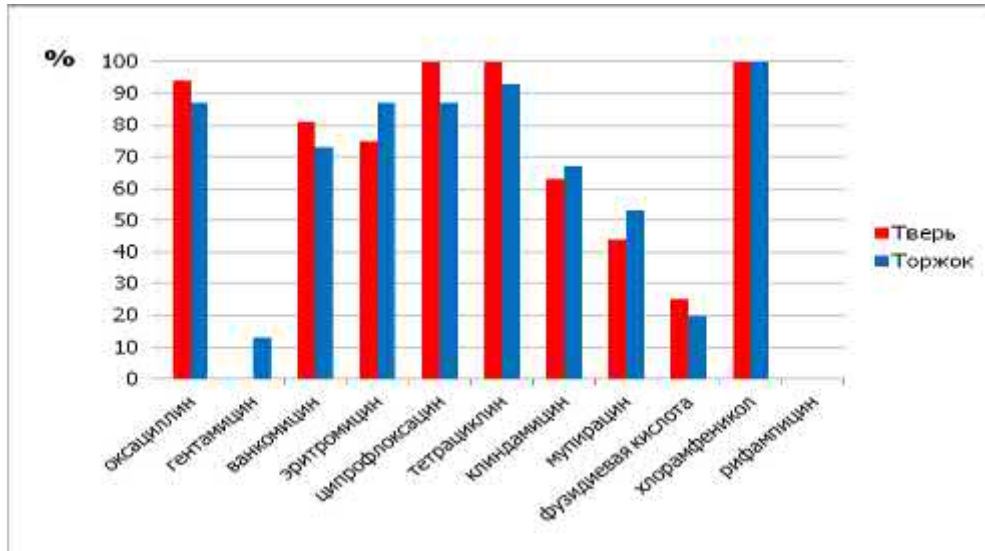


Рисунок 1 — Чувствительность *S. aureus*, выделенных от детей г. Твери и г. Торжка, к антимикробным препаратам

Штаммы *S. aureus*, выделенные от школьников г. Твери, проявляли чувствительность в 100% случаев к ципрофлоксацину, тетрациклину и хлорамфениколу, у всех штаммов отсутствовала чувствительность к гентамицину и рифампицину. К остальным антибактериальным препаратам чувствительность штаммов *S. aureus* варьировала от 25 до 94%. Штаммы *S. aureus*, изолированные от детей г. Торжка были чувствительны в 100% случаев к хлорамфениколу, чувствительность к рифампицину отсутствовала у всех штаммов. К остальным противомикробным средствам чувствительность штаммов *S. aureus* варьировала от 13 до 93%.

Характеристика газовых сигнальных молекул, выделяемых *Staphylococcus aureus*

Для своего метаболизма стафилококки активно используют следующие газовые молекулы: O_2 , N_2 и CO_2 . Все выделенные штаммы золотистого стафилококка выделяют большую концентрацию CO_2 (от 13276 ppm, г. Торжок, до 14261 ppm, г. Тверь), и активно потребляют O_2 (от — 6 %, г. Торжок, до — 7 %, г. Тверь). Что касается N_2 , то его выделяемая концентрация была незначительная, не превышающая 3,3% (Рисунок 2).

В процессе своей жизнедеятельности стафилококки вырабатывают разнообразные газовые сигнальные молекулы, но наиболее значимыми были результаты у здоровых детей г. Твери и г. Торжка по двум газам: H_2S и NO (Рисунок 3).

Продукция CH_4 и CO характеризовалась минимальной концентрацией (не более 3,4 ppm), причем практически равнозначной в обоих сравниваемых группах. Значительная разница выявлена среди следующих газомодуляторов: NO (от 15,9 ppm, г. Торжок, до 20 ppm, г. Тверь) и H_2S (от 41,9 ppm, г. Торжок, до 108 ppm, г. Тверь).

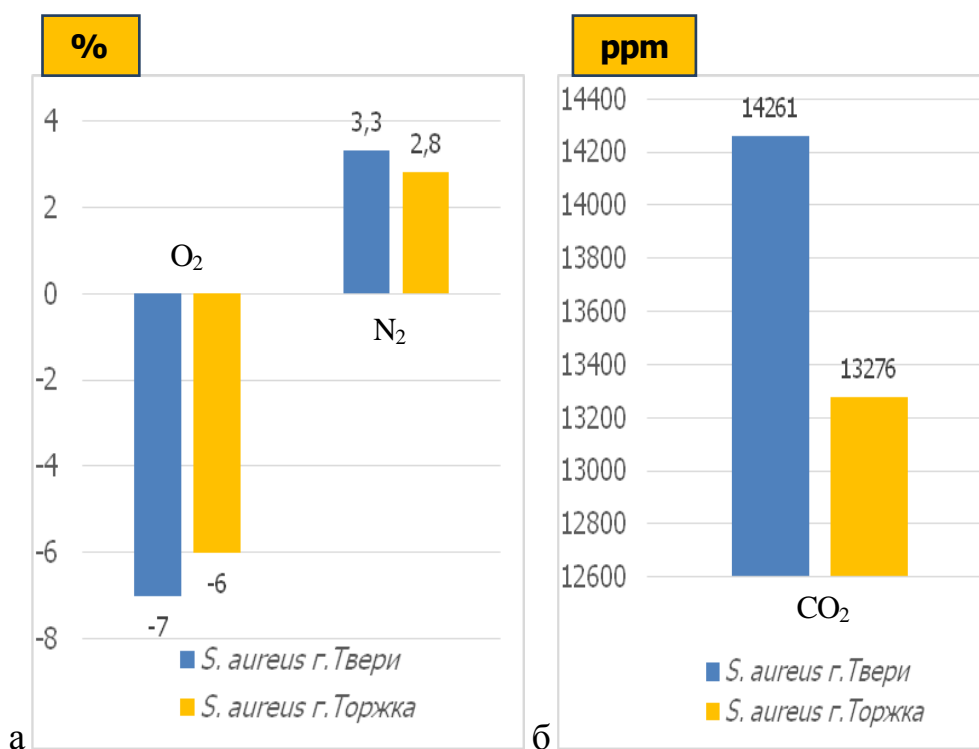


Рисунок 2 — Продукция газовых молекул *S. aureus*, выделенными от детей г. Твери и г. Торжка

Примечание: а — концентрация O_2 и N_2 ; б — концентрация CO_2

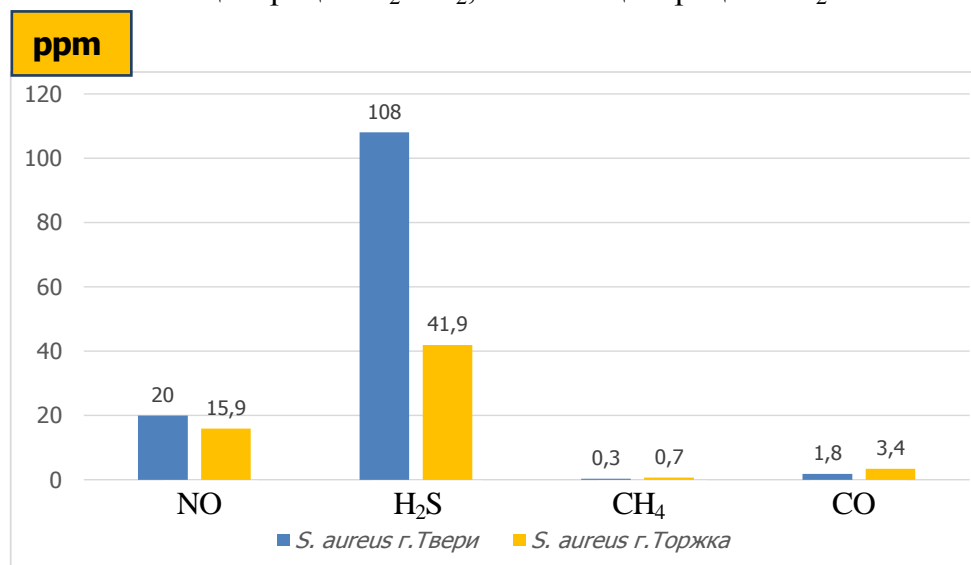


Рисунок 3 — Продукция газомодуляторов *S. aureus*, выделенными от детей г. Твери и г. Торжка

Характеристика микробиоты крыс при травматическом стоматите

Для изучения биологических свойств золотистого стафилококка *in vivo* на первом этапе эксперимента на белых беспородных крысах была воспроизведена модель травматического стоматита путём обработки ротовой полости всех животных 9 % УК. На втором этапе на основе травматического стоматита был смоделирован стафилококковый стоматит в ре-

зультате обработки полости рта всех крыс штаммом *S. aureus*, выделенным из зева здорового ребёнка 8 лет (г. Тверь).

На 4 сутки эксперимента (после трёхдневной обработки слизистой оболочки десен УК) у всех крыс визуально и на микропрепаратах выявлены признаки воспаления слизистой оболочки десны (Рисунок 4а, б).

Частота встречаемости и количество представителей нормобиоты и УПМ возросло по сравнению с интактными животными. Встречаемость *S. aureus* увеличилась на 20%, количество не изменилось (Рисунок 5, б).

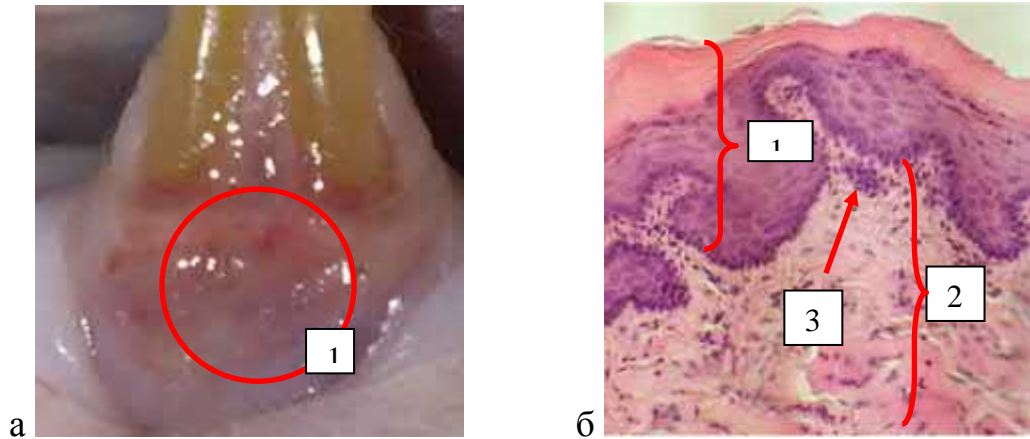


Рисунок 4 — Слизистая оболочка десны крысы после воздействия уксусной кислоты
Примечание: а (макрофотография) — 1 — гиперемия и отёк; б (микрофотография) — 1 — гипертрофированный многослойный плоский эпителий, 2 — собственная пластинка, 3 — очаговая инфильтрация собственной пластинки макрофагами, нейтрофилами, плазмощитами. Окраска гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 40, световой микроскоп Olympus CX21

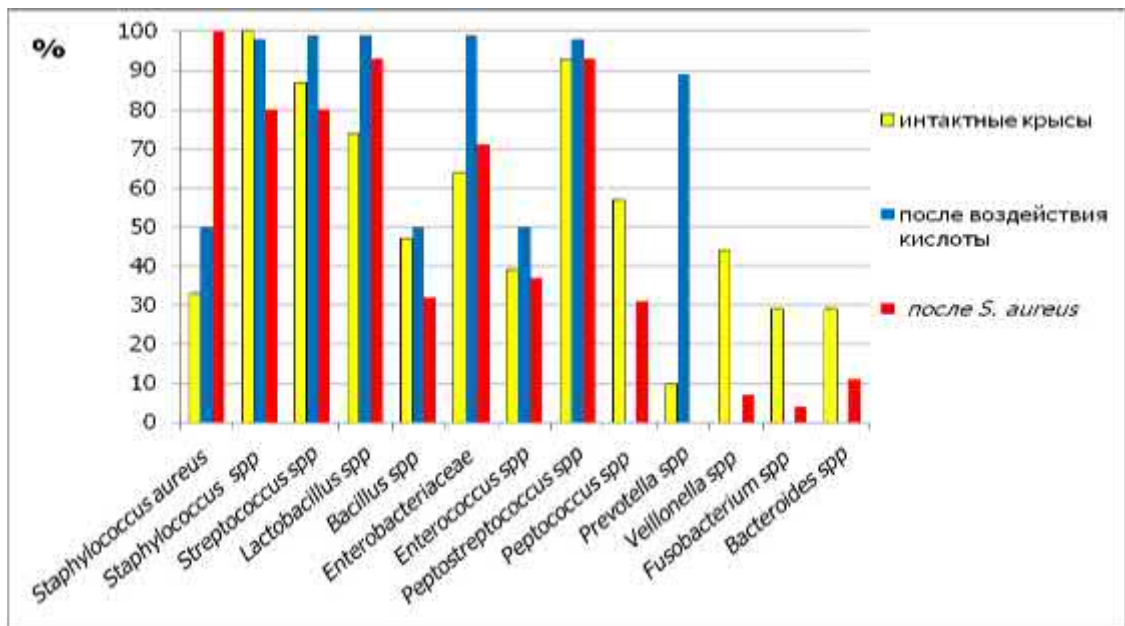


Рисунок 5 — Частота встречаемости микроорганизмов слизистой оболочки ротовой полости интактных крыс, крыс после трёхдневного воздействия уксусной кислоты и через сутки после воздействия культуры *S. aureus*

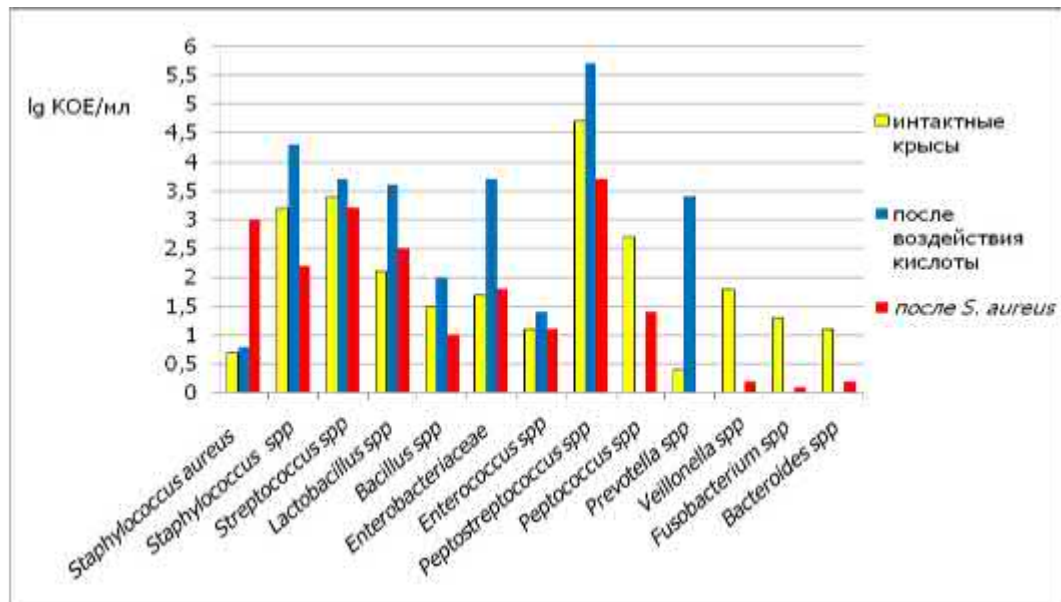


Рисунок 6 — Количество микроорганизмов слизистой оболочки ротовой полости интактных крыс, крыс после трёхдневного воздействия уксусной кислоты и через сутки после воздействия культуры *S. aureus*

Характеристика микробиоты крыс при бактериальном стоматите

На 5 сутки эксперимента (спустя сутки после обработки слизистой оболочки полости рта (СОПР) крыс культурой *S. aureus*) у всех животных обнаружено нарастание внешних и микроскопических признаков воспаления слизистой оболочки десны (Рисунок 7а, б).

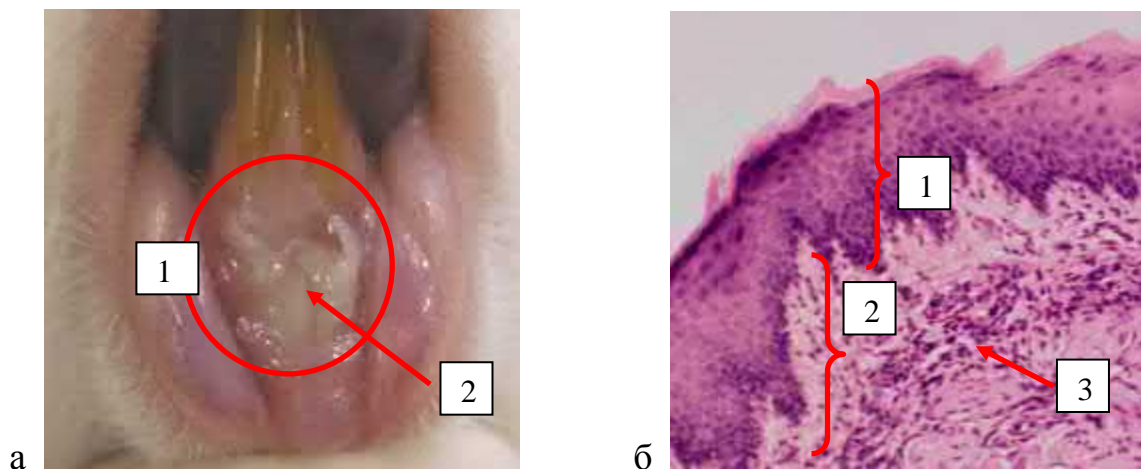


Рисунок 7 — Слизистая оболочка десны крысы после обработки культурой *S. aureus*
Примечание: а (макрофотография) — 1 — выраженная гиперемия и отёк, 2 — гнойный очаг; б (микрофотография) — 1 — гипертрофированный многослойный плоский эпителий с признаками разрушения поверхностного слоя, 2 — собственная пластинка, 3 — обильная инфильтрация собственной пластинки макрофагами, плазматическими клетками, нейтрофильными лейкоцитами. Окраска гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 40, световой микроскоп Olympus CX21

Частота встречаемости и количество всех представителей нормобиоты и УПМ резко снизилась, распространённость *S. aureus* возросла до 100%, количество до 3 lg КОЕ/мл (Рисунок 5, 6).

Характеристика микробиоты крыс при лечении стоматита пробиотическими штаммами лактобацилл

На 6 сутки (через день после обработки СОПР крыс культурами *Lactobacillus*) и до завершения эксперимента при визуальном осмотре и на гистологических препаратах зафиксировано постепенное уменьшение признаков воспаления до полного их исчезновения (Рисунок 8а, б).

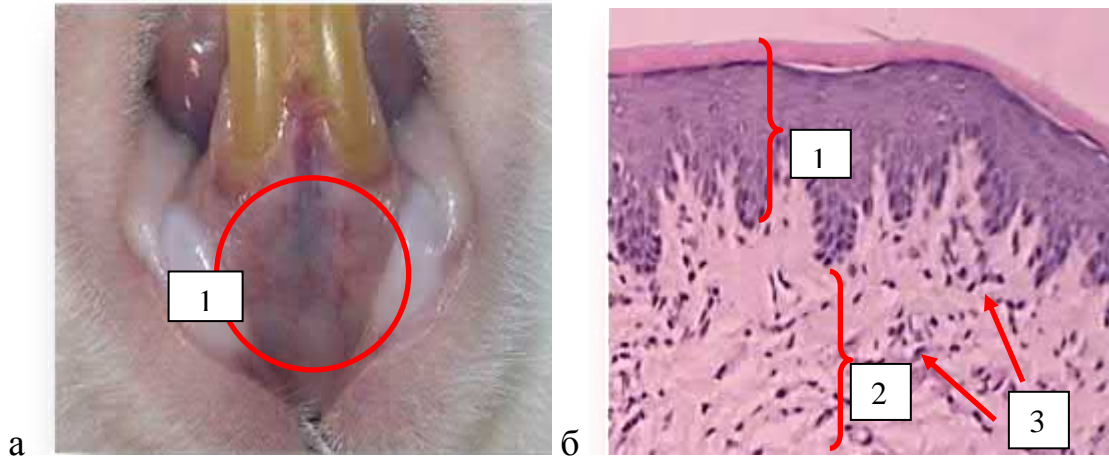


Рисунок 8 — Слизистая оболочка десны крысы на 4 сутки лечения культурой *Lactobacillus* 11 зв.

Примечание: а (макрофотография) — 1 — остаточные явления воспаления, незначительный отёк и гиперемия; б (микрофотография) — 1 — многослойный плоский эпителий, 2 — собственная пластинка, 3 — отдельные плазмциты, макрофаги и нейтрофильные лейкоциты. Окраска гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 40, световой микроскоп Olympus CX21

Частота встречаемости и количество представителей нормобиоты и УПМ опытных групп крыс нормализовались уже к 4 дню лечения и к окончанию опыта достигли значений интактных крыс, а в контрольной группе качественные и количественные показатели к концу эксперимента были ниже, чем до его начала (Рисунок 9, 10). На 4 сутки лечения продолжалось снижение частоты встречаемости и количества *S. aureus* в опытных группах.

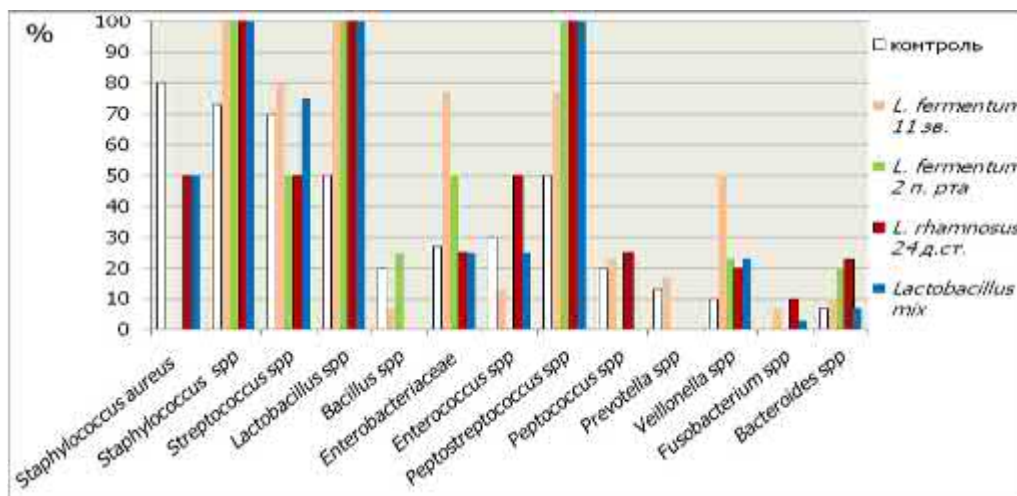


Рисунок 9 — Частота встречаемости микроорганизмов слизистой оболочки ротовой полости крыс контрольной и опытных групп на 4 сутки лечения культурами *Lactobacillus* 11 зв., *Lactobacillus* 2 п. рта, *Lactobacillus* 24 д. ст., комбинацией всех трёх культур лактобацилл

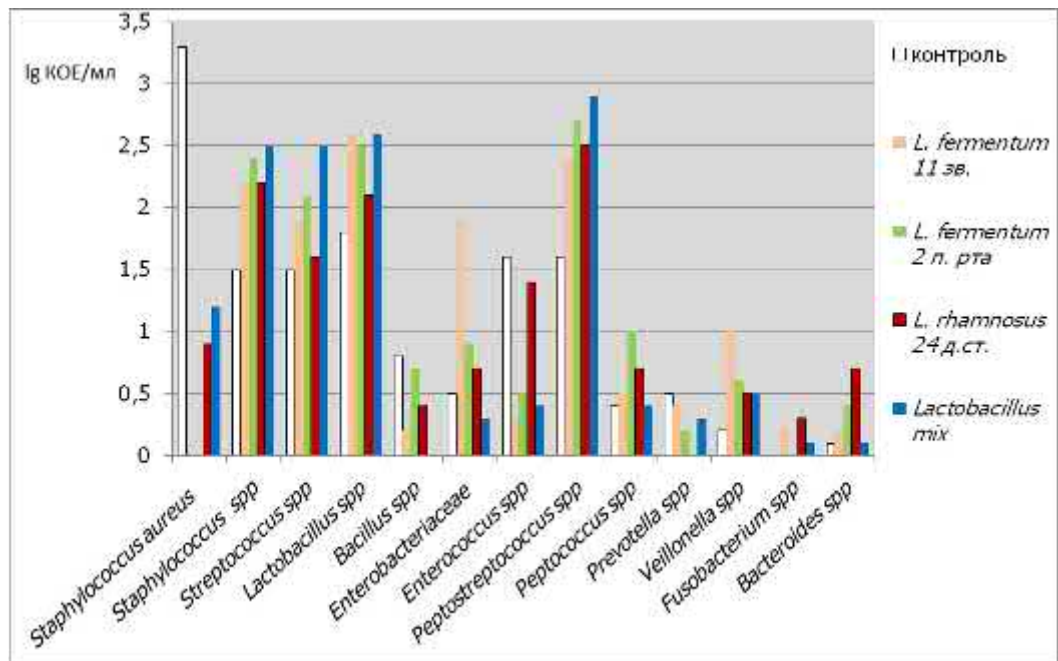


Рисунок 10 — Количество микроорганизмов слизистой оболочки ротовой полости крыс контрольной и опытных групп на 4 сутки лечения культурами *Lactobacillus* 11 зв., *Lactobacillus* 2 п. рта, *Lactobacillus* 24 д. ст., комбинацией всех трёх культур лактобацилл

На 7 сутки лечения *S. aureus* (12 день опыта) был выявлен только у 16,66% животных опытной группы, обрабатываемых *Lactobacillus* 24 д. ст., в количестве 0,2 lg КОЕ/мл. В контрольной группе распространённость и количество *S. aureus* на 12 день эксперимента составили 60% и 2,4 lg КОЕ/мл. У крыс контрольной группы, воспалительный процесс длился дольше, и к 12 дню эксперимента у половины животных фиксировалось его наличие (Рисунок 11а, б).

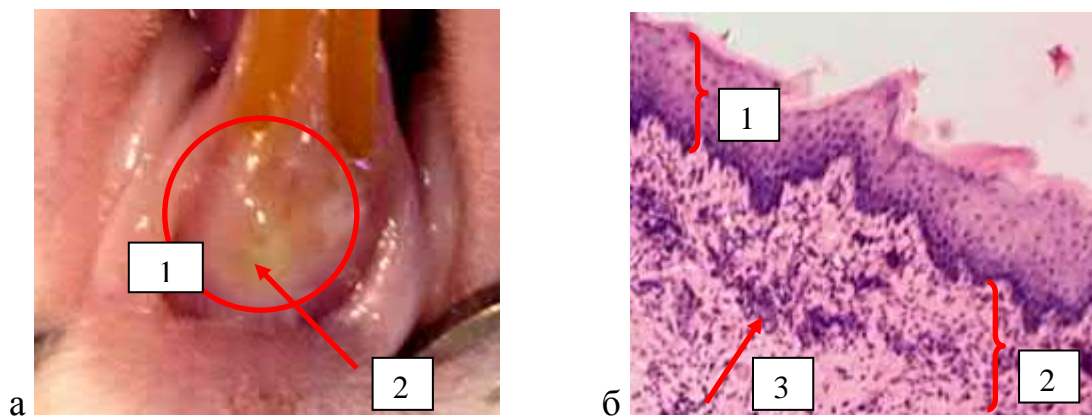


Рисунок 11 — Слизистая оболочка десны крысы с признаками воспаления на 7 сутки после комплексного воздействия УК и культурой *S. aureus*, контрольная группа
Примечание: 11а (макрофотография) — 1 — выраженная отёчность, 2 — гнойный очаг; 11б (микрофотография) — 1 — гипертрофированный многослойный плоский эпителий с признаками разрушения поверхностного слоя, 2 — собственная пластинка, 3 — массивная инфильтрация макрофагами, плазмощитами, нейтрофилами, лимфоцитами. Окраска гематоксилин и эозин. Ок. 10, об. 40, световой микроскоп Olympus CX21

На протяжении эксперимента наблюдалось восстановление микробиоты слизистой полости рта крыс и снижение распространённости и количества *S. aureus*, причём гораздо быстрее это происходило в опытных группах под влиянием культур лактобацилл. К окончанию эксперимента в опытных группах в 100% случаев воспаление слизистых оболочек дёсен обнаружено не было ни визуально, ни на микропрепаратах.

ВЫВОДЫ

1. Микробиота зева и носа здоровых детей 7–11 лет, проживающих в г. Твери и г. Торжке, представлена в основном (50 % и выше) стафилококками, в том числе, *S. aureus*, стрептококками, пептострептококками и пептококками. Количество представителей рода *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* и *Peptococcus* было наиболее высоким (от 3,2 до 4,5 lg КОЕ/мл).

2. Выявлен большой процент бактерионосительства золотистого стафилококка в зеве и носе здоровых детей 7–11 лет, проживающих в г. Твери и г. Торжке. Частота встречаемости и количество *S. aureus* в носу здоровых детей составила 80 % и 3,3 lg КОЕ/мл (г. Торжок), а также 45 % и 3,0 lg КОЕ/мл (г. Тверь). Со слизистой зева, напротив, *S. aureus* высевался в 3 раза реже и в меньшем количестве в г. Торжке (20 % и 0,8 lg КОЕ/мл) по сравнению с г. Тверью (55 % и 2,0 lg КОЕ/мл).

3. Штаммы *S. aureus* из г. Торжка обладали лецитиназной, коагулазной, гемолитической и казеинолитической активностями, 100 % устойчивостью к рифампицину, штаммы из г. Твери — лецитиназной и коагулазной активностью, 100 % резистентностью к гентамицину и рифампицину. Адгезивная активность всех штаммов *S. aureus* высокая (6,81±0,59, г. Тверь и 8,1±0,95, г. Торжок). Больше газомодуляторов продуцировали штаммы *S. aureus* из г. Твери (NO — 20 ppm и H₂S — 108 ppm), по сравнению со штаммами из г. Торжка (NO — 15,9 ppm и H₂S — 41,9 ppm).

4. Штамм *S. aureus*, выделенный со слизистой оболочки зева здорового ребёнка, спровоцировал развитие экспериментального стафилококкового стоматита на фоне травматического у лабораторных животных, что дало возможность изучить динамические изменения микробиоценоза и морфологии слизистой оболочки десны крыс.

5. Доказана целесообразность коррекции стафилококкового стоматита у крыс пробиотическими культурами *Lactobacillus* (*L. fermentum*, *L. rhamnosus*). К окончанию эксперимента только в одной из опытных групп после лечения культурами *Lactobacillus* у 16,66 % крыс был обнаружен *S. aureus* (0,2 lg КОЕ/мл), в контрольной группе *S. aureus* выявлен у 60 % животных (2,4 lg КОЕ/мл). У интактных крыс — 33 % (0,7 lg КОЕ/мл).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные по спектру, частоте встречаемости и количеству микробиоты верхних дыхательных путей, в частности *S. aureus*, когорты здоровых детей Тверской области, могут использоваться практическими врачами при определении этиологии заболеваний ротовой полости и носоглотки, а также при выборе антимикробной терапии.

2. Сведения, полученные в ходе нашего исследования, о высоком проценте бактерионосительства *S. aureus*, обладающего агрессивными свойствами, могут быть основой при разработке профилактических мероприятий заболеваний верхних дыхательных путей у детей школьного возраста.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Необходимо продолжить изучение распространённости и биологических свойств *S. aureus*, персистирующих у здоровых школьников 7-11 лет, которые живут в различных регионах Российской Федерации. Подобные исследования дадут необходимую информацию об общем уровне здоровья детей РФ и их иммунном статусе, что может иметь прогностическое значение.

2. Дальнейшие исследования применения штаммов лактобацилл с высоким пробиотическим потенциалом и антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов позволят расширить список кандидатов на включение в состав пробиотиков, а следовательно, найти новые подходы к лечению инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1) **Ганина, Е. Б.** Распространенность золотистого стафилококка среди клинически здоровых детей г. Торжка / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец. Текст : электронный // Молодежь и медицинская наука : материалы I межвузовской научно-практической конференции молодых ученых. — 434 Кб. / Тверская государственная медицинская академия ; ред. М. Н. Калинин [и др.]. — Тверь, 2013. — С. 29. — URL: gero.tvergma.ru. (дата обращения: 23.12.2020) — Загл. с экрана.
- 2) **Ганина, Е. Б.** Встречаемость золотистого стафилококка у клинически здоровых детей г. Твери и г. Торжка / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец. — Текст : непосредственный // Молодежь и медицинская наука : материалы II межвузовской научно-практической конференции молодых ученых. Тверь, 20 ноября 2014 г. / Тверская государственная медицинская академия ; ред. М. Н. Калинин [и др.] — Тверь, 2014. — С. 197-198.
- 3) **Ганина, Е. Б.** Сравнительное исследование различных моделей экспериментального стоматита / Е. Б. Ганина, Р. К. Сингх, Н. В. Грудинин. — Текст : непосредственный // Молодежь, наука, медицина : материалы 61-й Всероссийской межвузовской студенческой научной конференции, посвящённой 70-летию Победы в Великой Отечественной войне. Тверь, 23 апреля 2015 г. / Тверская государственная медицинская академия ; ред. М. Н. Калинин [и др.]. — Тверь, 2015. — С. 437- 438.
- 4) **Ганина, Е. Б.** Моделирование стоматита вызванного различными повреждающими агентами в условиях эксперимента на животных / Е. Б. Ганина, Р. К. Сингх. — Текст : непосредственный // Журнал анатомии и гистопатологии. — 2015. — Т. 4, №3. — С. 38.
- 5) **Антагонизм лактобацилл, стрептококков и стафилококков полости рта / Ю. В. Червинец, Е. А. Беляева, Е. Б. Ганина, А. В. Трошин, А. В. Червинец.** — Текст : непосредственный // **Стоматология.** — 2015. — Т. 94, №1. — С. 4 – 6.
- 6) **Ганина, Е. Б.** Бактерионосительство золотистого стафилококка у клинически здоровых детей г. Твери / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, Н. В. Грудинин. — Текст : непосредственный // Проблемы медицинской микологии. — 2016. — Т. 18, № 2. — С. 54.
- 7) Морфологические особенности слизистых покровов полости рта при экспериментальном стоматите у крыс / **Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, Н. В. Грудинин, С. А. Донсков, Н. А. Костюничева.** — Текст : непосредственный // **Морфология.** — 2016. — Т. 149, вып. 3. — С. 59.

- 8) Кузнецова, В. С. Лечение стоматита высокоактивными штаммами лактобацилл в эксперименте на животных / В. С. Кузнецова, **Е. Б. Ганина**, Ю. В. Червинец. — Текст : электронный // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XVI-й международной конференции студентов и молодых ученых и I Форума молодежных научных обществ, 2-3 ноября 2016 г. / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Витебский государственный медицинский университет ; ред. А. Т. Щастный [и др.] – Витебск, 2016. – С. 60-62. — URL: <https://www.vsmu.by/downloads/confs/XVIInksimu.pdf> (дата обращения: 25.01.2021).
- 9) **Ганина, Е. Б.** Эффективный способ лечения бактериального стоматита в эксперименте на крысах / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, Н. В. Грудинин. — Текст : электронный // Молодёжь и медицинская наука : материалы IV межвузовской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием. 24 ноября 2016 г. / Тверской государственный медицинский университет ; ред. М. Н. Калинин [и др.]. — 2,52 Мб. — Тверь, 2016. — С. 36. — URL: repo.tvergma.ru. (дата обращения: 23.12.2020) — Загл. с экрана.
- 10) **Гистологическая картина стоматита в эксперименте на крысах / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, В. Г. Шестакова, Н. В. Грудинин, В. С. Кузнецова, Е. А. Прутенская.** — Текст : электронный // **Современные проблемы науки и образования : электронный научный журнал.** — 2017. — № 5. — URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=26783> (дата обращения: 27.09.2017).
- 11) **Ганина, Е. Б.** Моделирование стоматита в эксперименте на крысах разных возрастных групп / Е. Б. Ганина, В. С. Кузнецова, Н. В. Грудинин. — Текст : электронный // XII Международная (XXI Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых : сборник тезисов / Российский национальный исследовательский университет им. Пирогова. — Москва, 2017. — С. 169. — URL: <http://pirogovka.rsmu.ru/16148.html> (дата обращения: 23.12.2020).
- 12) Кузнецова, В. С. Новый подход к лечению заболеваний полости рта высокоактивными штаммами лактобацилл / В. С. Кузнецова, **Е. Б. Ганина**, Н. В. Грудинин. — Текст : непосредственный // XII Международная (XXI Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых : сборник тезисов / Российский национальный исследовательский университет им. Пирогова. — Москва, 2017. — С. 140. — URL: <http://pirogovka.rsmu.ru/16148.html>
- 13) **Ганина, Е. Б.** Модель стоматита в эксперименте на животных / Е. Б. Ганина, Н. В. Грудинин, В. С. Кузнецова. — Текст : непосредственный // Проблемы медицинской микологии. — 2017. — Т. 19, № 2. — С. 51.
- 14) **Ганина, Е. Б.** Характеристика патогенных свойств золотистого стафилококка / Е. Б. Ганина. — Текст : электронный // Молодёжь и медицинская наука : материалы V Межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием. Тверь, 23 ноября 2017 г. / Тверской государственный медицинский университет ; ред. М. Н. Калинин [и др.]. — Тверь, 2017. — С. 116. — URL: repo.tvergma.ru. (дата обращения: 23.12.2020) — Загл. с экрана.
- 15) **Ганина, Е. Б.** Биологические свойства золотистого стафилококка, выделенного от здоровых детей г. Твери и Тверской области / Е. Б. Ганина. — Текст : электронный // Санкт-Петербургские научные чтения-2017 : VII международный молодежный медицинский конгресс, 6-8 декабря 2017 г. : тезисы / Первый Санкт-Петербургский государственный

- медицинский университет им. акад. И. П. Павлова ; отв. ред. Н. А. Гавришева. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 167. – URL: <https://sovetsno1med.ru/thesis> (дата обращения: 10.12.2020).
- 16) **Метаболическая активность высокоантагонистических штаммов лактобацилл здорового человека / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Е. А. Беляева, О. А. Петрова, Е. Б. Ганина. — Текст : непосредственный // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. — № 4. – С. 11 – 17.**
 - 17) **Новый подход к лечению стоматита белых крыс (экспериментальное исследование) / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, Н. В. Грудинин, В. Г. Шестакова, В. М. Червинец, А. Ю. Миронов. — Текст : непосредственный // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2018. — Том 62, №4. — С. 168-173.**
 - 18) **Микробиота желудочно-кишечного тракта новорождённых первого месяца жизни в Тверской области / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, О. А. Петрова, Л. К. Антонова, С. В. Погасян, Е. Б. Ганина, А. Ю. Миронов. — Текст : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Т. 63, № 9. — С. 579-583.**
 - 19) **Динамика изменчивости микробиоты полости рта и толстого кишечника юношей при перемене условий жизни / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Э. С. Кравчук, Е. Б. Ганина. — Текст : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. — 2019. – Т.64, №8. — С. 507-512.**
 - 20) **Ганина, Е. Б. Строение десны и состояние микрососудов при экспериментальном стоматите у крыс с различным микробиологическим статусом / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, В. Г. Шестакова. — Текст : непосредственный // Морфология. — 2019. – Т. 155, №2. — С. 75.**
 - 21) **Морфологические изменения слизистой оболочки полости рта до и после лечения бактериального стоматита в эксперименте на крысах / Е. Б. Ганина, Ю. В. Червинец, В. Г. Шестакова, В. М. Червинец, Н. В. Грудинин. — Текст : непосредственный // Актуальные проблемы ветеринарной морфологии и высшего зооветеринарного образования : сборник трудов Национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения выдающегося ученого-морфолога, профессора Ирины Владимировны Хрусталёвой. — Москва : ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, 2019 – С. 7.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВДП — верхние дыхательные пути
 КОЕ – колониобразующая единица
 СОПР – слизистая оболочка полости рта
 СПА – средний показатель адгезии
 УК – уксусная кислота
 УПМ – условно-патогенные микроорганизмы