

личие тропических инфекций, а также микозов. Если у пациента имеется патология кожи, консервативное лечение которой не приносит выздоровления длительное время, надо искать поверхностные микозы кожи.

При имеющихся хронических инфекционных заболеваниях (ревматизм, хроническая обструктивная болезнь легких и т.д.) необходимо определить иммунный статус пациента для исключения иммунодефицитов разного типа. При наличии нарушений со стороны иммунной системы необходимо провести курс восстановительной иммунотерапии для их коррекции. При наличии хронических вирусных заболеваний проведение пластических операций возможно только по жизненным показаниям, острые вирусные инфекции являются критерием исключения для операций.

В предоперационном периоде необходимо провести полное биохимическое обследование для верификации состояния метаболизма инсулина и глюкозы. Для обеспечения контроля чистоты кожных покровов требуется проведение анализа на контаминацию микроскопическими патогенными грибами, с использованием современных микробиологических тестов, включая ПЦР диагностику 18S рРНК, геномное секвенирование и т.д.

### Список литературы

1. Spagnoli A, Monacelli G, Rizzo M et al. Extensive facial trauma caused by dog bites in woman suffering from systemic fluconazole-resistant *Candida* infection. *G Chir.* 2011; 32(8-9): 376-8.
2. Oliveira C, Vasconcellos C, Sakai-Valente N et al. Toll-like receptors (TLR) 2 and 4 expression of keratinocytes from patients with localized and disseminated dermatophytosis. *Rev Inst Med Trop* 2015; 57(1): 57-61.
3. Rath S, Kar S, Sahu S, Sharma S. Fungal periorbital necrotizing fasciitis in an immunocompetent adult. *Ophthalmol. Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 25(4): 334-5.
4. Apostolopoulos V, de Courten M, Stojanovska L et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res.* 2016; 60(1): 43-57.
5. Saraiya H. Successful management of cutaneous mucormycosis by debriding debridement. *Ann Plast Surg.* 2012; 69(3): 301-6.
6. Piazza R, Thomas W, Stawski W, Ford R. Mucormycosis of the face. *J Burn Care Res.* 2009; 30(3): 520-3.
7. Kim S, Kim H, Hwang K. Mixed infection of an atypical *Mycobacterium* and *Aspergillus* following a cryopreserved fat graft to a face. *J Craniofac Surg.* 2013; 24(5): 1676-8.

## ПРОБЛЕМА КОНТАМИНАЦИИ ПЛЕСНЕВЫМИ ГРИБАМИ ИНКУБАТОРОВ В ЭКО ЛАБОРАТОРИИ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТАМИНИРУЮЩЕГО АГЕНТА И РАЗРАБОТКА РУТИННОГО АЛГОРИТМА ОБРАБОТКИ CO<sub>2</sub>-ИНКУБАТОРОВ

Апрышко В.П.<sup>1,3</sup>, Страшинова А.Л.<sup>1</sup>, Мухоморова А.А.<sup>3</sup>, Болт А.И.<sup>1</sup>, Бирюков А.А.<sup>1</sup>, Воронич Н.С.<sup>1</sup>, Бозина Я.В.<sup>1</sup>, Яковенко С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ЭКО центр, клиника «Альтравида», Москва.

<sup>2</sup> МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва.

<sup>3</sup> МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Контаминация CO<sub>2</sub>-инкубаторов микрофлорой – одна из важных проблем, возникающих в лабораториях, работающих с культурами клеток. Повышенная влажность и температура являются благоприятными условиями для активного роста микробиоты.

В одной из эмбриологических лабораторий г. Москвы, нами было проведено исследование введенных в эксплуатацию инкубаторов на предмет наличия заражения микробицетами. Проведено определение видовой принадлежности полученных образцов, выявлены источники контаминации и проведена оценка эффективности дезинфекции.

Для культивирования эмбрионов человека *in vitro* лаборатории используют CO<sub>2</sub>-инкубаторы с водяной рубашкой. Внутри инкубатора поддерживаются следующие физические параметры: влажность 95–100%, температура 37 °C и воздушная среда, содержащая 5–7% CO<sub>2</sub>. Данные условия являются стимулирующим фактором для роста и распространения микробиоты на внутренних поверхностях инкубаторов. Разработка эффективной и безопасной стратегии по борьбе с контаминацией является одной из важнейших проблем ЭКО лабораторий.

Согласно литературным данным, основными видами контаминантами влажных CO<sub>2</sub>-инкубаторов являются *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* и *Pasclomyces variotti*. Известно, что токсичные метаболиты, выделяемые плесневыми грибами, вызывают различные повреждения клеточных культур. Было отмечено, что афлатоксины *Aspergillus* spp. даже в минимальных концентрациях ингибируют синтез белка и ДНК, снижают митотическую активность, приводя тем самым к подавлению клеточного роста. Хотя



личие тропических инфекций, а также микозов. Если у пациента имеется патология кожи, консервативное лечение которой не приносит выздоровления длительное время, надо искать поверхностные микозы кожи.

При имеющихся хронических инфекционных заболеваниях (ревматизм, хроническая обструктивная болезнь легких и т.д.) необходимо определить иммунный статус пациента для исключения иммунодефицитов разного типа. При наличии нарушений со стороны иммунной системы необходимо провести курс восстановительной иммунотерапии для их коррекции. При наличии хронических вирусных заболеваний проведение пластических операций возможно только по жизненным показаниям, острые вирусные инфекции являются критерием исключения для операций.

В предоперационном периоде необходимо провести полное биохимическое обследование для верификации состояния метаболизма инсулина и глюкозы. Для обеспечения контроля чистоты кожных покровов требуется проведение анализа на контаминацию микроскопическими патогенными грибами, с использованием временных микробиологических тестов, включая ПЦР диагностику 18S рРНК, геномное секвенирование и т.д.

### Список литературы

1. Spagnoli A, Monacelli G, Rizzo M et al. Extensive facial trauma caused by dog bites in woman suffering from systemic fluconazole-resistant *Candida* infection. *G Chir.* 2011; 32(8-9): 376-8.
2. Oliveira C, Vasconcellos C, Sakai-Valente N et al. Toll-like receptors (TLR) 2 and 4 expression of keratinocytes from patients with localized and disseminated dermatophytosis. *Rev Inst Med Trop* 2015; 57(1): 57-61.
3. Rath S, Kar S, Sahu S, Sharma S. Fungal periorbital necrotizing fasciitis in an immunocompetent adult. *Ophthalmol. Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 25(4): 334-5.
4. Apostolopoulos V, de Courten M, Stojanovska L et al. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res.* 2016; 60(1): 43-57.
5. Saraiya H. Successful management of cutaneous mucormycosis by debriding debridement. *Ann Plast Surg.* 2012; 69(3): 301-6.
6. Piazza R, Thomas W, Stawski W, Ford R. Mucormycosis of the face. *J Burn Care Res.* 2009; 30(3): 520-3.
7. Kim S, Kim H, Hwang K. Mixed infection of an atypical *Mycobacterium* and *Aspergillus* following a cryopreserved fat graft to a face. *J Craniofac Surg.* 2013; 24(5): 1676-8.

## ПРОБЛЕМА КОНТАМИНАЦИИ ПЛЕСНЕВЫМИ ГРИБАМИ ИНКУБАТОРОВ В ЭКО ЛАБОРАТОРИИ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТАМИНИРУЮЩЕГО АГЕНТА И РАЗРАБОТКА РУТИННОГО АЛГОРИТМА ОБРАБОТКИ CO<sub>2</sub>-ИНКУБАТОРОВ

Апрышко В.П.<sup>1,3</sup>, Страшинова А.Л.<sup>1</sup>, Мухомотова А.А.<sup>2</sup>, Болт А.И.<sup>1</sup>, Бирюков А.А.<sup>1</sup>, Воронич Н.С.<sup>1</sup>, Бозина Я.В.<sup>1</sup>, Яковенко С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ЭКО центр, клиника «Альтравита», Москва.

<sup>2</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва.

<sup>3</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Контаминация CO<sub>2</sub>-инкубаторов микрофлорой – одна из важных проблем, возникающих в лабораториях, работающих с культурами клеток. Повышенная влажность и температура являются благоприятными условиями для активного роста микробиоты.

В одной из эмбриологических лабораторий г. Москвы, нами было проведено исследование введенных в эксплуатацию инкубаторов на предмет наличия заражения микромицетами. Проведено определение видовой принадлежности полученных образцов, выявлены источники контаминации и проведена оценка эффективности дезинфекции.

Для культивирования эмбрионов человека *in vitro* лаборатории используют CO<sub>2</sub>-инкубаторы с водяной рубашкой. Внутри инкубатора поддерживаются следующие физические параметры: влажность 95–100%, температура 37 °C и воздушная среда, содержащая 5–7% CO<sub>2</sub>. Данные условия являются стимулирующим фактором для роста и распространения микробиоты на внутренних поверхностях инкубаторов. Разработка эффективной и безопасной стратегии по борьбе с контаминацией является одной из важнейших проблем ЭКО лабораторий.

Согласно литературным данным, основными видами контаминантами влажных CO<sub>2</sub>-инкубаторов являются *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* и *Penicillium varioti*. Известно, что токсичные метаболиты, выделяемые плесневыми грибами, вызывают различные повреждения клеточных культур. Было отмечено, что афлатоксины *Aspergillus* spp. даже в минимальных концентрациях ингибируют синтез белка и ДНК, снижают митотическую активность, приводя тем самым к подавлению клеточного роста. Хотя



какое-либо влияние метаболитов *P. variotii* на человеческие эмбрионы не доказано, оно является вероятным. Кроме того, продукты метаболизма *P. variotii* вызывают коррозию металлов. Существующие методы дезинфекции оказываются либо неэффективными для уничтожения микотической контаминации, либо неприемлемы для использования при обработке CO<sub>2</sub>-инкубаторов или недопустимы при работе с клеточными культурами из-за высокой токсичности и/или агрессивности. Регулярная обработка 70%-ным раствором этилового спирта все еще остается единственным оптимальным методом деконтаминации.

Для определения видовой принадлежности контаминирующей микрофлоры были собраны поверхностные образцы из 24 эксплуатируемых инкубаторов Thermo Scientific Series 8000 WJ CO<sub>2</sub> Incubator.

Для установления возможного источника контаминации, на наличие микроорганизмов были протестированы упаковки, полки, стеклянные дверцы и стенки 8 новых (не введенных в эксплуатацию) CO<sub>2</sub>-инкубаторов. Также был проанализирован аспирационным методом воздух в лаборатории с помощью прибора Кротова, исследованы смывы с рук сотрудников, взяты пробы воды из водяной рубашки 24 эксплуатируемых инкубаторов.

Для определения вида и концентрации микроорганизмов, образцы отправляли в лабораторию Альгологии и Микологии (Биол. Факультет МГУ). Видовую принадлежность определяли по Domsch K. H. et al, 2007 [1].

В результате микробиологического анализа внутренних поверхностей 24 эксплуатируемых инкубаторов был обнаружен плесневый гриб *Raecilomyces variotii* Bainier в качестве единственного контаминанта. Исследование частей и бумажной упаковки 8 новых (неэксплуатируемых) инкубаторов выявило 6 видов плесневых грибов: *Neurospora crassa*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus niger* Tiegh., а также *Raecilomyces variotii* Bainier.

Из водяной рубашки 24 эксплуатируемых инкубаторов был выделен только один бактериальный вид, его определение не проводилось. Грибов выделено не было. Воздух в помещении отдела эмбриологии соответствовал стандартам для лабораторий класса В.

Сотрудники лаборатории как источник загрязнения инкубаторов были исключены, т. к. в лаборатории соблюдались методы асептики и антисептики, а также меры по профилактике контаминации: использовались стерильные перчатки, халаты, маски и шапочки. Контролирующие органы Росздравнадзора регулярно исследуют

смывы с рук сотрудников лаборатории.

Для установления скорости роста *P. variotii* и определения необходимой частоты деконтаминации инкубаторов применяли метод бакпечаток [2]. Использовались бакпечатки HiTouchFlexiPlate (Himedia Laboratories, Индия) с селективными микотическими средами (FL006, FL009, FL010, FL011). Пробы брали со стенок и полок инкубаторов (посевы в четырех повторах с каждой точки отбора) в день обработки (день 0) и затем через 5, 10, 15, 20, 25, 30 дней после нее. Инкубаторы обрабатывали в соответствии с условиями асептики и рекомендациями производителя [3] 70%-ным раствором этилового спирта и дистиллированной водой.

Наибольшее число КОЕ/см<sup>2</sup> обнаружено при инкубировании на среде FL010 (табл. 1), богатой по составу и содержащей в 50 раз больше декстрозы, чем другие среды (табл. 2). В дальнейшем, для разработки режима деконтаминации инкубаторов мы рекомендуем использовать бакпечатки с этим типом среды.

Таблица 1. Число КОЕ/25 см<sup>2</sup> и КОЕ/см<sup>2</sup> в зависимости от среды культивирования

| Среда | Число бакпечаток | Число КОЕ | Число КОЕ на бакпечатку (25 см <sup>2</sup> ) | Число КОЕ/см <sup>2</sup> |
|-------|------------------|-----------|-----------------------------------------------|---------------------------|
| FL006 | 43               | 301       | 7,00                                          | 0,28                      |
| FL009 | 47               | 317       | 6,74                                          | 0,27                      |
| FL010 | 44               | 578       | 13,14                                         | 0,53                      |
| FL011 | 44               | 382       | 8,68                                          | 0,35                      |

По результатам проведенного анализа на 0,5, 10 день после деконтаминации инкубаторов *P. variotii* не высевается. Рост колоний выявлялся с 15-го дня (на 15-, 20-, 25- и 30-й день после обработки).

В ходе исследований в данной лаборатории был выделен единственный контаминант внутренних поверхностей CO<sub>2</sub>-инкубаторов – *P. variotii*. Видимого негативного влияния данного вида гриба на развитие эмбрионов замечено не было. Исходя из того, что воздух лаборатории был мало заражен, а на смывах с рук сотрудников и в воде из водяной рубашки инкубаторов микрофлора не обнаружена,



Таблица 2. Состав среды FL010 (рН (при 25°C) 4,6 ± 0,2).

| Компонент среды         | грамм/л |
|-------------------------|---------|
| Биопептон               | 10,00   |
| Дрожжевой экстракт      | 9,00    |
| Глюкоза                 | 50,00   |
| Сульфат магния          | 2,10    |
| Дигидроортофосфат калия | 2,00    |
| Диастаза                | 0,05    |
| Гидрохлорид тиамин      | 0,05    |
| Краситель-индикатор     | 0,026   |
| Агар                    | 15,00   |

то наиболее вероятным источником контаминации является упаковка и детали новых инкубаторов, с которых был выделен наряду с другими плесневыми грибами *P. variotii*. Согласно данным, полученным в ходе проведенных экспериментов, оптимальной частотой деконтаминации инкубаторов является их обработка один раз в 15 дней.

Таким образом, рекомендуется непосредственно в каждой лаборатории устанавливать вид контаминирующего агента и рабатывать индивидуальный режим рутинного обеспечения чистоты инкубаторов. Использование бакпечаток HiTouch FlexiPlate со средой FL010 может быть оптимальным для этих целей.

Единственным методом борьбы с появлением микофлоры в инкубаторах для культивирования эмбрионов на сегодняшний день остается физическое удаление мицелия – регулярная обработка 70%-ным раствором этилового спирта и дистиллированной водой. Высокая частота повторного появления заражения указывает на необходимость разработки новых методов дезинфекции инкубаторов при совместном сотрудничестве с фирмами производителями.

### Список литературы

1. Domsch KH, Gams W, Anderson TH. Compendium of soil fungi. INHW-Verlag Eching, 2007: pp. 78-80, 81-85, 324-325.
2. TL013\_02.HiTouch.0903. Manual for HiTouch FlexiPlate. p. 28.
3. Operating and Maintenance Manual 7003422 Rev. 7

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ ПРИ ОДОНТОГЕННЫХ СИНУСИТАХ, ОСЛОЖНЕННЫХ АСПЕРГИЛЕМОЙ

Байдик О.Д., Сысолятин П.Г.

Сибирский государственный медицинский университет, Томск  
Новосибирский государственный медицинский университет

Проблема микотических инфекций верхнечелюстных синусов заслуживает большого внимания в связи с увеличением частоты данного заболевания во всем мире. Самой распространенной формой микоза верхнечелюстных пазух является грибковое «тело» [1]. При этом поражении грибы не проникают в слизистую оболочку (СО) или под нее, костные стенки пазухи не разрушаются. Наиболее частой причиной является одонтогенное заражение верхнечелюстных синусов, связанное с выведением пломбировочного материала в пазуху [1, 3]. Диагностика основывается на данных лучевых, морфологических и микологических методов исследования [1–4].

В предыдущих работах нами описаны ультраструктурные изменения СО верхнечелюстной пазухи (ВЧП) при одонтогенных синуситах, осложненных аспергиллемами [4, 5]. Однако в настоящее время особую актуальность приобретают исследования на молекулярном уровне, проведенные с использованием иммуногистохимии, которые способны определить не только тип воспаления, но и состояние местного иммунитета СО.

Материал и методы. В период с 2000 по 2015 гг. обследовано 193 пациента с диагнозом «хронический одонтогенный верхнечелюстной синусит, грибковый «тело» пазухи». При микологическом исследовании грибковое «тело» во всех случаях идентифицировано как род гриба *Aspergillus*. У 32 пациентов с верифицированным диагнозом «аспергиллема» провели морфологическое исследование СО ВЧП. Контрольная группа представлена биоптатами визуально неизменной СО ВЧП у 6 пациентов.

Для иммуногистохимического исследования фрагменты СО фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине в течение 24 ч, затем заливали в парафин. На депарафинированные срезы наносили блокирующий реагент (Peroxidase-Blocking Solution, Dako, Дания), после чего проводили высокотемпературную обработку срезов в соответствующем буферном растворе (в зависимости от протокола окрашивания к каждому конкретному моно- или поликлону). На



# Advances in Medical Mycology

Volume 17

Series editor: Y.V. Sergeev

The dermatophytes and superficial mycoses

Candida and candidosis in general medicine

Focal mycoses and the problem of actinomycosis

Allergic sensitization to fungi and sanitary mycology

Mycotoxins and fungal poisoning

Advances in Medical Mycology.  
Moscow: All-Russian National Academy  
of Mycology. 2017. Vol 17. 486 p.

ISBN 978-5-901-578-30-8



9 785901 578308

# УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том XVII



Дерматофитии и микозы кожи, волос и ногтей

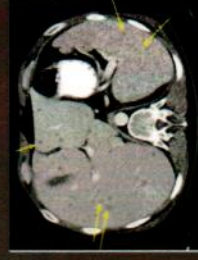
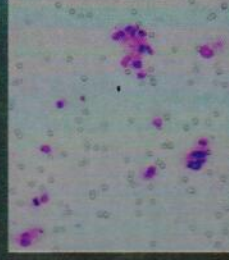
Кандидоз как общемедицинская проблема

Микозы особых локализаций. Актиномикоз

Опасные, инвазивные и оппортунистические микозы

Микогенная аллергия и санитарная экология

Микотоксины и отравления грибами



ISSN 2310-9467



# УСПЕХИ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Под общей научной редакцией  
Ю.В. Сергеева

**Том XVII**

**ТРУДЫ ЧЕТВЕРТОГО СЪЕЗДА МИКОЛОГОВ  
РОССИИ**

**Москва, 12-14 апреля 2017 г.**

Москва

Национальная Академия Микологии  
2017

*Вручить*