

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Медико-профилактический факультет с отделением микробиологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии**

Исламуратова Ляйсан Ильдаровна

**ОЦЕНКА ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ
ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНИХОМИКОЗОВ**

Руководитель:
к.б.н., доцент

Галимзянова Н.Ф.

Уфа – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4-6
Глава I. Литературный обзор.....	7-27
1.1. Микроскопические грибы - их биология, физиология, экология, участие в инфекционных процессах.....	7-11
1.2. Онихомикозы - распространенность, известные возбудители, патогенез, новые виды, вызывающие онихомикозы.....	11-17
1.3.Современные методы диагностики онихомикозов.....	18-20
1.4. Вещества-антимикотики, механизмы их действия, развитие резистентности к ним и поиск новых эффективных фунгицидных соединений.....	20-27
Глава II. Материалы и методы.....	28-36
2.1.Объекты исследований.....	28-30
2.2.Соединения, использованные в экспериментальной работе.....	31-33
2.3.Методы исследований.....	34-35
2.3.1.Среды для культивирования микроскопических грибов.....	34
2.3.2. Выделение грибов из клинического материала.....	35
2.3.3 Метод оценки фунгицидного действия новых соединений.....	35-36

Глава III. Результаты исследования и обсуждения.....	37-52
3.1. Выделение и идентификация изолятов из клинического материала.....	37-39
3.2. Оценка фунгицидной активности новых соединений <i>in</i> <i>vitro</i>	39-52
Заключение.....	53
Выводы.....	54
Список литературы.....	55-64
Приложение.....	65-76

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Онихомикоз представляет собой грибковую инфекцию ногтевой пластинки, которая может вызываться различными видами патогенных грибов. При онихомикозе может поражаться одна или несколько ногтевых пластинок на руках, на стопах или одновременно на пальцах нижней и верхней конечности человека [Меньшикова, 2009]. В настоящее время согласно официальным данным онихомикозами страдают не менее 10–20% людей от общего количества населения Земли [Сергеев и др., 2000].

Основными возбудителями онихомикоза являются *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes* [Сергеев и др., 2008]. На их долю приходится до 90% всех грибковых инфекций ногтей. В РФ *T. rubrum* играет основную роль в этиологии микозов стоп и онихомикозов, уровень заболеваемости которыми остается высоким и в настоящее время [Сергеев, 2005]. Однако в последние десятилетия наметилась тенденция к расширению видового состава возбудителей онихомикозов [Carvalho et., 2014]. Среди них отмечено появление таких видов как *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus versicolor*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* и *Scytalidium* spp. [Moreno et al., 2010], *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* и *Microascus cinereus* [Tullio et al., 2010], что свидетельствует о необходимости расширения тест-систем для оценки фунгицидного действия новых соединений.

Заболеваемость онихомикозами различна в странах с отличающимися климатическими условиями. Так, распространенность онихомикозов в Испании составила 1,7% (0,8% среди мужчин и 1,8% - у женщин), тогда как в Финляндии (практически тождественной по климату Северо-Западу России) при обследовании 800 человек в возрасте от 6 до 80

лет онихомикозы были выявлены в 8,4% случаев (13% мужчин и 4,3% женщин) [Медведева и др., 2012].

В России каждое десятое обращение к дерматологу связано с онихомикозом, при распространенности этого заболевания приблизительно у 5% населения. Наиболее частой причиной обращения к врачу является неудовлетворенность внешним видом ногтевых пластинок, а также снижение качества жизни [Медведева и др., 2012].

В мире нет идеального средства лечения онихомикозов, который подходил бы всем пациентам, не давал бы побочных эффектов и который обеспечивал бы полное их излечение. Это вынуждает совершенствовать существующие и создавать новые эффективные антимикотики с учетом новых возбудителей, что играет большую роль при лечении микотических инфекций у больных с сопутствующими хроническими заболеваниями. При лечении онихомикозов возникают две проблемы, связанные с длительностью применения антимикотических средств – это возникновение побочных эффектов у пациента и формирование резистентности у патогена, вызывающего данное заболевание [Pfaller et al., 2004]. Отсюда следует, что основной прогресс в создании антимикотических средств связан с поиском соединений перспективных для применения в качестве лекарственных препаратов в медицине. Особенность разработки средств борьбы с грибами заключается в постепенном развитии у них устойчивости к применяемым веществам, поэтому существует постоянная необходимость в поиске новых или модификации существующих антимикотических соединений.

Цель исследования. Оценить фунгицидное действие ряда новых соединений из групп γ -(2,4-пентадион-3-ил) сульфидов и триазолов в условиях *in vitro* по отношению к микроскопическим грибам, в том числе и вызывающим поверхностные дерматомикозы.

Задачи исследования.

1. Выделить и идентифицировать микроскопические грибы из клинического материала.

2. Изучить влияние γ -(2,4-пентадион-3-ил) сульфидов на развитие *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Trichophyton terrestre*, дерматомицетов *Microsporum canis*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, а также клинических изолятов.

3. Изучить влияние новых соединений триазолового ряда на развитие *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Trichophyton terrestre* и клинических изолятов.

Научная новизна.

Впервые будет дана оценка фунгицидного действия новых соединений.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Микроскопические грибы - их биология, физиология, экология, участие в инфекционных процессах

Грибы представляют собой эукариотные, гетеротрофные организмы, отличающиеся слабо дифференцированными тканями, особым строением клеточной стенки, а также наличием спор, служащих как покоящимися, так и служащими для распространения [Мюллер, Леффлер, 1995]. Подавляющее большинство грибов имеют гифы – нитчатые вегетативные органы, совокупность гиф представляет собой мицелий. Мицелий грибов может быть одноклеточным (ценоцитным), либо разделенным септами на отдельные фрагменты. Вегетативное тело грибов (таллом) может быть представлен почкующимися или покоящимися клетками. Такой тип строения характерен для дрожжей [Андреев и др., 2008]. В клетках грибов присутствуют все основные органеллы характерные для клеток эукариот (ядро, митохондрии, рибосомы (80S), аппарат Гольджи и т.д.). Особенностью клеточной стенки грибов является наличие в ее составе хитина, целлюлозы, ряда других глюканов и полисахаридов. В наружных частях клеточной стенки у ряда грибов откладываются темные пигменты - меланины.

Главной отличительной особенностью физиологии грибов является их тип питания – они способны утилизировать лишь готовые органические вещества. Основным типом питания грибов является осмотрофный, что определяет способность к выделению в окружающую среду ферментов-деполимераз, разлагающих органические соединения большой молекулярной массы на фрагменты, транспортируемые в клетки. Грибы способны утилизировать различные вещества – полимеры (в первую очередь углеводы) [Зверева, 2010]. Грибы отличаются способностью к

развитию в широком диапазоне температур – от +5⁰ С до +50⁰ С и значений рН среды. Размножение грибов включает как половой, так и бесполой способы. Бесполое размножение осуществляется путем митоза и приводит к формированию спор различных типов. Половые стадии обнаружены у совершенных грибов, созревание половых спор происходит в специальных структурах – асках (сумках) или плодовых телах.

Грибы обладают высокой скоростью роста и размножения, что позволяет им быстро заселять разнообразные субстраты. Грибы представляют собой разнообразные экологические группы микроорганизмов и имеют повсеместное распространение [Carlile et al., 2001]. Грибы наряду с бактериями входят в гетеротрофный блок экосистемы, через их тело проходит две трети связанного углерода на Земле [Дьяков и др., 2005]. Основная роль грибов в экосистемах - редукция органических субстратов. На основе пищевых трофических связей грибы можно разделить на шесть групп: сапротрофы, патогены растений (факультативные или облигатные), симбиотрофы-микоризообразователи, хищники и паразиты животных [Мирчинк, 1988].

Грибы выделены в особое царство *Fungi*, включающее более 120000 известных видов. В него входят отделы *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* и *Basidiomycota*. Практически во всех отделах есть грибы - паразиты животных [Андреев и др., 2008].

Микроскопические грибы, благодаря особенностям своего строения и метаболизма, занимают широчайший спектр экологических ниш, основной их функцией в биосфере является деструкция различных растительных остатков [Carlile et al., 2001]. Способность грибов утилизировать вещества природного и антропогенного происхождения обуславливает необходимость защиты конструкционных и иных материалов от разрушений, вызываемых грибами.

Грибы способны вызывать разнообразные реакции в организме животных и человека. Условно все реакции можно разделить на инфекционные и неинфекционные. К последним относятся всевозможные типы аллергий, вызываемые грибами и микотоксикозы. Для многих грибов характерно образование вторичных метаболитов разнообразной химической природы, некоторые из которых способны оказывать токсическое действие на человека. Большинство известных микотоксинов продуцируют грибы родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* [Саттон и др., 2001]. Инфекционные заболевания человека, вызываемые грибами, называются микозами. В настоящее время известно более 500 видов грибов, являющихся инфекционными агентами.

В зависимости от клинических проявлений в отечественной литературе микозы подразделяются на ряд групп. Поверхностные (кератомикозы), при которых поражаются поверхностный слой кожи и кутикула волос (разноцветный лишай, белая и черная пьедра) [Меньшиков, 2009]. Эпидермомикозы (дерматомикозы)- поражаются глубокие слои кожи, ее придатки (волосы, ногти), слизистые оболочки. Возбудителями таких заболеваний выступают представители родов *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Candida*. В последние годы участились случаи таких заболеваний, вызванных нетипичными видами микроскопических грибов. Подкожные (субкутанные) микозы поражают глубокие слои кожи, мышцы, фасции, кости. Их возбудители принадлежат к родам *Sporotrix*, *Hyphomycetes* и др. Следующей группой микозов являются системные (висцеральные) микозы, поражающие внутренние органы. Эти заболевания вызываются грибами родов *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Histoplasma*, а также некоторыми условно-патогенными грибами (*Aspergillus*, *Penicillium*) [Андреев и др., 2008].

В 60-х годах прошлого века L. Ajello предложил разделить дерматомицеты на три экологические группы в зависимости от среды

обитания: геофильные, зоофильные, антропофильные [Ajello, 1962]. Геофильные дерматомицеты способны поддерживать свое существование в почве, зоофильные грибы паразитируют на животных. Выбор того или иного хозяина определяется сродством гриба к различным по биохимическому составу видам кератина [Rippon, 1982]. Возникновение антропофильных дерматомицетов определяют этнические и социологические факторы.

Способность дерматомицетов к проникновению в роговой слой эпидермиса определяется патогенностью и вирулентностью возбудителя, массивностью его инфицирующей дозы, уровнем биохимической активности и морфофизиологическими особенностями.

Кроме того, для развития дерматомикоза необходима предрасположенность организма к микотической инфекции. Благоприятными факторами для развития болезни являются возраст человека, нарушение обмена веществ и гормонального баланса организма, дисбактериоз кишечника, иммунодефицитное состояние, чрезмерная потливость, условия труда и состояние кожи [Родионов, 2000; Новоселов, 2007; Андреев и др., 2008]. Физиологической особенностью грибов, вызывающих дерматомикозы, является их дерматотропизм и способность поражать преимущественно рогового слоя эпидермиса, волос и ногтей. Дерматомицеты способны к комплексному гидролизу белков (кератин, эластин, коллаген) кожи и её придатков [Овчинников и др., 2004], благодаря секретируемым внеклеточным сериновым протеазам – кератиназам. Такая протеолитическая активность является конститутивной и определяет фактор инвазии. Дерматомицеты образуют специальные органы прикрепления к субстрату - инфекционные и перфорационные гифы, которые воздействуют на волос или ноготь поверхностной эрозией (1) или радиальным проникновением (2) [Пупкова, 2010]. Общеизвестно, что способность разрушать кератин и использовать его как основной

источник углерода и азота является главной предпосылкой паразитизма дерматомицетов.

1.2. Онихомикозы - распространенность, известные возбудители, патогенез, новые виды, вызывающие онихомикозы

По данным ВОЗ, не менее 1/5 жителей нашей планеты страдает грибковыми заболеваниями, значительную часть которых составляют дерматомикозы [Navlickova et al., 2008; Меньшиков, 2009]. Согласно данным международной статистики, онихомикозами страдает 10 – 20% от общего количества населения Земли, а среди всех заболеваний ногтей грибковые инфекции составляют не менее трети [Касихина, Яковлев, 2012]. Степень инфицированности дерматомицетами населения европейских государств колеблется от 20 до 70%, а в среднем по Российской Федерации она составляет около 40%. В последние годы отмечается тенденция роста грибковых инфекций [Иванов, Ломоносов, 1997; Рукавишникова, 1997], что связывают с неблагоприятной социально-экологической обстановкой и, как следствие, нарушением иммунного статуса населения. Показано, что заболеваемость поверхностными микозами тесно связана с географическим положением, климатическими условиями и образом жизни [Segal, Frenkel, 2015]. Заболеваемость онихомикозами различна в странах с отличающимися климатическими условиями. Так, распространенность онихомикозов в Испании составила 1,7% (0,8% среди мужчин и 1,8% - у женщин), тогда как в Финляндии (практически тождественной по климату Северо-Западу России) при обследовании 800 человек в возрасте от 6 до 80 лет онихомикозы были выявлены в 8,4% случаев (13% мужчин и 4,3% женщин) [Медведева, Леина, 2012]. В Европе поражение населения различными микозами достигает 60 %, в некоторых штатах Америки частота инвазивных форм

микоза составляет около 20% [Войно- Ясенецкая, 2000]. В России каждое десятое обращение к дерматологу связано с онихомикозом. Наиболее частой причиной обращения к врачу является неудовлетворенность внешним видом ногтевых пластинок, а также снижение качества жизни [Медведева, Леина, 2012].

Онихомикоз (лат. *onychomycosis*) представляет собой грибковую инфекцию ногтевой пластинки, вызываемая различными видами возбудителей. При онихомикозе может поражаться одна или несколько ногтевых пластинок на руках, на стопах или одновременно на пальцах нижней и верхней конечности человека. Онихомикозы относятся к поверхностным микозам [Меньшикова, 2009].

Инфицирование ногтевых пластинок стоп происходит в основном в общественных банях, саунах, плавательных бассейнах. Чешуйки с патогенными грибами, отпадающие у больных микозом стоп, попадают на полы, скамьи, решетки, дорожки, ковры и подстилки. В условиях повышенной влажности грибы могут не только длительное время сохраняться, но и размножаться, особенно на неокрашенных деревянных скамьях и решетках, что делает их интенсивным источником инфицирования [Потекаев, 2014].

Возникновению онихомикоза способствуют травмирование ногтей, нарушения кровоснабжения конечностей, тяжелые сопутствующие заболевания (сахарный диабет, иммунодефицитные состояния, болезни крови). Онихомикоз нередко встречается у лиц, длительно получающих антибактериальную, кортикостероидную и иммуносупрессивную терапию. Поражение ногтевых пластинок происходит вторично: вначале грибы поражают межпальцевые складки или подошву, а затем ногти. Однако возможно развитие изолированного онихомикоза, когда возбудитель проникает в ногтевую пластинку из-под ее дистального, латерального, проксимального краев или через дорсальную поверхность.

Онихомикозы классифицируют по месту их локализации [Zaias, 1972]:

- дистальная (дистально–латеральная) подногтевая форма - поражение начинается с краёв ногтевого ложа; пластинка теряет прозрачность, становясь белёсой или жёлтой, край ногтя неровный, крошится, может развиваться подногтевой гиперкератоз;
- поверхностная (подногтевая белая) форма - начинается с образования небольших белых пятен и полосок на дорсальной поверхности пластинки, которые со временем увеличиваются и приобретают жёлтый цвет;
- проксимальная подногтевая форма - начинается в области заднего ногтевого валика и эпонихия, распространяясь вглубь на матрикс;
- тотальная дистрофическая форма - пластинка выглядит утолщенной, желтовато-серой, неровной, может частично или полностью разрушаться; в большинстве случаев наблюдается подногтевой гиперкератоз, выраженный в различной степени.

Около 50 видов грибов могут вызывать инфекции ногтей в качестве единственных возбудителей. Этиология этих заболеваний становится более разнообразной, если учесть случаи смешанной инфекции, когда из пораженного ногтя выделяют сразу несколько видов грибов. Роль многих грибов как возможных возбудителей онихомикоза в настоящее время не установлена [Сергеев, 2007]. К возбудителям дерматомикозов - дерматомицетам относят около 30 видов, объединенных в три рода – *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum* [Дьяков, 2003].

Дерматомицеты считаются основными возбудителями онихомикоза. На их долю приходится до 90% всех грибковых инфекций ногтей. Возбудителем онихомикоза может быть любой дерматофит, но чаще это заболевание вызывают два вида - *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale* [Сергеев, 2007]. Их удельный вес в этиологии онихомикоза различен: *T. rubrum* выявляется в 70-95%,

T. interdigitale - в 7-34% случаев [Потекаев, 2014]. В Республике Башкортостан *T. rubrum* играет основную роль в этиологии микозов стоп и онихомикозов, уровень заболеваемости которыми остается высоким и в настоящее время [Латыпов, 2012]. Возбудители микозов относятся к IV группе патогенности - оппортунистические инфекции [Меньшикова, 2009].

Trichophyton rubrum Castellani, Sabouraud, 1911 (синонимы-*Epidermophyton rubrum*, *T. purpureum*, *T. multicolor*). Колонии на среде Сабуро белые пушистые, обратная сторона цвета красного вина (некоторые штаммы продуцируют розовый, красно-коричневый, желтый или зеленый пигмент). Некоторые штаммы образуют мучнистые или зернистые колонии. Гифы септированные, бесцветные с многочисленными булавовидными микроконидиями (3-4x1-2 мкм). Макроконидии (40-55x6-8 мкм) сигарообразные, септированные (1-9 септ). Ряд штаммов образует артроконидии, хламидоспоры встречаются редко. Уреазной активности нет, в факторах роста не нуждается [Андреев и др., 2008, Саттон и др., 2001] (рис.1).



Рисунок 1. Микрофотография *Trichophyton rubrum* [Сергеев, 2007].

Trichophyton mentagrophytes Robin, Blanchard, 1896 (синонимы-*Trichophyton granulosum*, *T. gypseum*). *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* обладает большей агрессивностью по отношению к роговым

структурам, чем остальные дерматофиты. Живущий на поверхности гриб разрушает пластинку перфорирующими гифами, пробивающими слои кератина, а также в результате действия кератиназ. Обычно *T.mentagrophytes* поражает I и V пальцев ноги [Сергеев, 1998]. Телеоморфа- *Ascomycetes*, *Onygenales*, *Arthrodermataceae*, *Arthroderma benhamiae*. Колонии антропофильных видов (*Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*) на среде Сабуро сначала белые, пушистые, затем желтоватые, розовые до коричневого цвета, мучнистые или бархатистые, плоские, мелко складчатые. Обратная сторона желтая, коричневая, красная. Гифы септированные, тонкие, бесцветные с многочисленными завитками и спиралями. Микроконидии многочисленные шаровидные диаметром 2 мкм, образуются вдоль гиф или в виде грозди. Макроконидии малочисленные булавовидные (20-40х6-8 мкм) с перегородками [Андреев и др., 2008, Саттон и др., 2001] (рис.2).

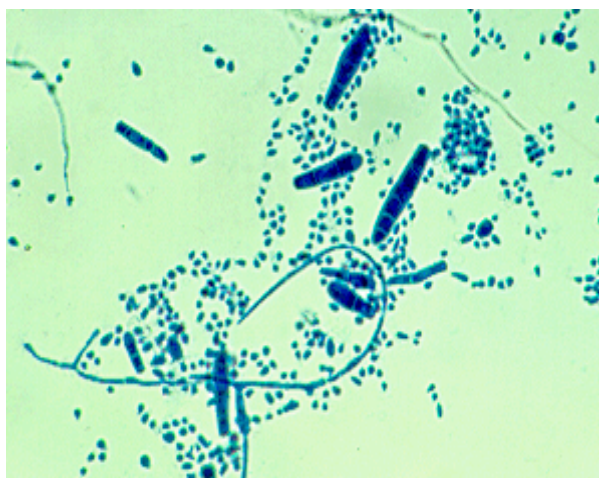


Рисунок 2. Микрофотография *Trichophyton mentagrophytes* [Сергеев, 2007].

Trichophyton tonsurans - антропофильный вид, передающийся от человека к человеку. Обычный возбудитель дерматоцитов дерматомикоза волосистой части головы и инфекционный поражений кожи и головы. В некоторых случаях определен как возбудитель эпидермофитии стоп. Данный вид отличается от *T. rubrum* наличием уреазной активности и большим разнообразием формы конидий и от *Trichophyton mentagrophytes* - потребностью в тиамине [Саттон, 2001] (рис.3).

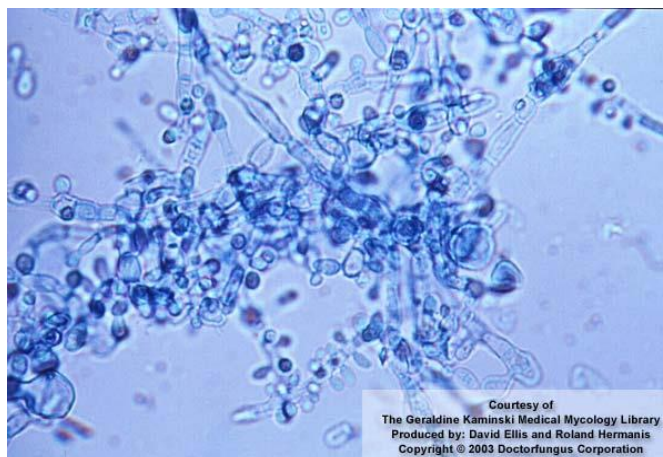


Рисунок 3. Микрофотография *Trichophyton tonsurans*
[Ellis,Hermanis,2003].

Грибы рода *Candida* вторые по частоте после дерматофитов возбудители онихомикозов. Доля *Candida* spp. в числе возбудителей онихомикозов невелика, не более 5-10% [Сергеев, 2007].

Исследования немецких дерматологов показали, что дерматомицеты являются наиболее частой причиной поражения ногтей (у 80–86 % пациентов), дрожжи выступают в качестве этиологического фактора у 8 % больных и поражают в основном ногти кистей. Плесени вызывают онихомикоз в 6 % случаев [Sterrj, Paus, 2006]. Плесневые грибы-недерматофиты представлены разными видами семейств *Moniliaceae* и *Dematiaceae*. Большинство представителей этих видов считаются непатогенным и не способны самостоятельно вызвать онихомикозы. Однако виды *Scytalidium dimidiatum* и *S.hyalinum* признаны

самостоятельными возбудителями, по патогенности не уступающим дерматофитам. Онихомикозы вызывают также плесневые грибы *Aspergillus* spp., а также *Fusarium* spp. и *Acremonium* spp. [Сергеев, 1998]. В последние десятилетия наметилась тенденция к расширению видового состава возбудителей онихомикозов [Carvalho et al., 2014]. Среди них отмечено появление таких видов как *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus versicolor*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Scytalidium* spp. [Moreno, Arenas, 2010], *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* и *Microascus cinereus* [Tullio et al., 2010]. Одной из вероятных причин этого явления может рассматриваться усиление антропогенной нагрузки на экосистемы, в первую очередь их загрязнение ксенобиотиками, которое приводит к увеличению разнообразия и численности потенциально опасных видов грибов [Марфенина, 2005].

Грибы вызывают заболевание, попадая в пластинку, ложе, матрикс и проксимальный валик ногтя. Чаще всего грибы внедряются в ноготь из-под дистального (свободного) или латерального края ногтевой пластинки. При инфекции, вызванной *T. rubrum* – главным возбудителем онихомикоза, поражению ногтя предшествует инфицирование кожи гипонихия или латеральной складки. Грибы проникают в ногти обычно из очага грибковой инфекции на подошве, на который больной не обращает внимания из-за отсутствия симптомов. Из-под латерального и дистального краев ногтевой пластинки грибы попадают в ложе ногтя. Далее происходит распространение грибов в проксимальном направлении. Грибы, проникая в ногтевую пластинку, вызывают ее медленное разрушение [Сергеев, 1998].

Онихомикозы у детей встречаются реже, чем у взрослых. По численности преобладают пожилые люди, что можно объяснить нарушениями периферического кровообращения, медленным ростом ногтевых пластинок, травматизацией кожи, кистей, стоп, а также трофическими расстройствами.

1.3.Современные методы диагностики онихомикозов

Правильный сбор материала из пораженных ногтей – залог успешного микробиологического исследования. Нежизнеспособные грибы в культуре не вырастут, и их вид не удастся установить.

Перед взятием пораженный участок обрабатывается 70⁰ спиртом для устранения контаминации. Образцы отбирают скальпелем с тонких, ломких с измененной окраской пораженных участков. Весь материал собирают в стерильные емкости (эппендорфы), которые обязательно должны герметично закрываться [Меньшикова, 2009].

При поверхностной форме онихомикозы делают соскобы с поверхности ногтевой пластинки. При дистальной подногтевой форме жизнеспособные грибы находятся под ногтевой пластинкой. Материал должен включать обрезок ногтевой пластинки, соскоб с ногтевого ложа и из-под пластинки. Следует захватывать и области неизменного ногтя, поскольку на границе между ними и пораженными участками ногтя располагаются самые активные грибы. При проксимальном поражении проводят гистологические исследования или дифференциальную диагностику, делают биопсию ногтя [Сергеев,2000]. После успешного сбора, материал доставляют в лабораторию вместе с направлением, где указывают фамилию, пол, год рождения и место жительства.

В лабораторных условиях чистые грибные культуры получают при выделении из исследуемого материала методами механического разобщения и культивирования на искусственных питательных средах. Грибы растут медленнее бактерий, видимый рост их колоний на твердых питательных средах обычно наблюдается на 3-5 день. Образование колоний грибов на твердых питательных средах - результат апикального роста главной гифы и ее ответвлений [Нетрусов, Котова, 2006].

В общей клинической практике для подтверждения диагноза онихомикоза наиболее часто используется метод микроскопического

исследования (КОН-тест). Для установления вида возбудителя требуется проведение посева материала на питательную среду Сабуро с последующей идентификацией выделенной культуры. Однако число положительных результатов культурального исследования весьма невелико.

Так, по данным зарубежной литературы, частота положительного культурального исследования едва достигает 50 %, в отечественных исследованиях возбудитель не удается выделить в 64 % случаев. В последние годы во всем мире, в том числе и в Российской Федерации, активно разрабатывается и внедряется в практику медицинских учреждений новый метод генодиагностики микозов кожи и ногтей: прямая ДНК-диагностика дерматофитии (полимеразная цепная реакция на главные возбудители грибковых заболеваний человека) [Белоусова, Горячкина, 2010]. Теперь, забирая материал из пораженных ногтей, врач в течение 24 часов может почти с абсолютной точностью говорить о наличии или отсутствии грибковой инфекции. Кроме того, этот метод сразу определяет вид возбудителя по обнаруженному в соскобе генетическому материалу гриба [Сергеев, 2000].

Использование такой ПЦР – диагностики, как средство лабораторного контроля при лечении онихомикоза, может обеспечить ранние отрицательные показатели микологического излечения, позволяя избежать повторных (нередко трехкратных) обследований, традиционно выполняемых с помощью КОН-микроскопии, за счет более высокой точности генодиагностики. Внедрение ПЦР наряду с дифференцированным подходом к терапии в перспективе позволит сократить сроки наблюдения при лечении больных онихомикозом. К тому же, высокая прогностическая ценность отрицательного результата ПЦР фактически гарантирует контроль излеченности на отдаленных сроках [Мокина и др., 2009].

Таким образом, онихомикозы являются распространенным инфекционным заболеванием, поражающим преимущественно взрослое население и существенно снижающее качество жизни пациента.

1.4. Вещества-антимикотики, механизмы их действия, развитие резистентности к ним и поиск новых эффективных фунгицидных соединений

В мире нет идеального средства лечения онихомикозов, который подходил бы всем пациентам, не давал бы побочных эффектов и который обеспечивал бы полное их излечение [Лещенко, 2004]. Это вынуждает совершенствовать существующие и создавать новые эффективные антимикотики с учетом новых возбудителей.

При лечении онихомикозов возникают две проблемы, связанные с длительностью применения антимикотических средств – это возникновение побочных эффектов у пациента и формирование резистентности у патогена, вызывающего данное заболевание. При разработке новых веществ особого внимания требуют детальное изучение механизмов устойчивости к применяемым веществам [Sojakova, 2004, Pfaller, 2004, Verweij et al., 2009, Snelders et al., 2011], а также улучшение методов для обнаружения резистентности микроорганизмов и методов их предотвращения [Mahmoud et al., 2015].

Как известно, основной причиной рецидивирующего является развитие устойчивости к применяемым противогрибковым средствам [Хамаганова и др., 2006]. Различают исходную (природную) и приобретенную устойчивость. Исходная резистентность обусловлена отсутствием взаимодействия препарата с мишенью и/или выживаемостью гриба под действием препарата. Появление и естественный отбор штаммов с высокой минимальной подавляющей концентрацией (МПК) в результате мутации обуславливает приобретенную устойчивость к противогрибковым

препаратам, а длительное лечение способствует её развитию. Резистентность может развиваться сразу к нескольким противогрибковым соединениям, что называется перекрестной резистентностью. Например, известны штаммы рода *Candida* с перекрестной резистентностью к миконазолу, флуконазолу, итраконазолу и кетоконазолу [Cross et al., 2000], а также к равуконазолу и флуконазолу [Pfaller et al., 2004]. Исследования проведенные с более чем тридцатью веществами - азолами показали, что как минимум три из них применяемые в лечебной практике способны формировать перекрестную устойчивость у *Aspergillus fumigates* [Snelders et al., 2012]

В качестве основных средств борьбы с дерматомикозами в настоящее время используют синтетические и некоторые природные антимикотические препараты на основе азолов, аллиламинов, гризанов (гризеофульфин), морфолинов (аморолфин), пиримидинов (циклопирокс), а также антимикробных препаратов неспецифического действия (препараты йода, анилиновые красители). Известно не менее 10 системных и сотни местных противогрибковых средств [Ломоносов, 2007].

Антимикотические препараты классифицируют по группам, различающимся механизмом действия на грибную клетку. Основной мишенью многих противогрибковых средств является эргостерол – главный компонент цитоплазматической мембраны клетки грибов, который контролирует ее функции. Биосинтез молекулы эргостерола проходит в четыре этапа: 1) образование мевалоновой кислоты, 2) полимеризация мевалоновой кислоты в сквален, 3) циклизация сквалена в ланостерол, и 4) модификация ланостерола, ведущая к эргостеролу [Odds et al., 2003].

Наиболее изученными препаратами, с универсальным по широте спектром фунгицидного действия, являются азолы. Они начали активно использоваться за рубежом в терапии онихомикозов с середины 80–х годов

XX века. На территории России разрешены к применению с 1996 года. Всемирное признание и широкую известность приобрели благодаря своей высокой эффективности и удобству применения в лечении наиболее распространенной формы грибковой патологии – онихомикозов [Moossavi et al., 2001]. Азолы ингибируют синтез эргостерола [Odds et al., 2003]. Известны четыре препарата азолового ряда (итраконазол, вориконазол, позаконазол, флуконазол), которые используются системно. Антимикотический эффект оказывается при подавлении цитохром Р-450 зависимой 14- α -деметилазы - фермента четвертой стадии биосинтеза эргостерола. Агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США (FDA) одобрило два новых препарата для лечения онихомикоза (Эфконазол, Тавабарол) [Rosen et al., 2015]. Особенностью эфконазола является мощная противогрибковая активность в отношении дерматофитов, дрожжевых и недерматофитных грибов (Siu et al., 2013). Широкое применение фунгицидов на основе азолов в медицине и сельском хозяйстве привело к их накоплению в окружающей среде. Многочисленные работы по изучению их влияния на растения, почву, воду и ее обитателей обобщены в обзоре [Chen, Ying, 2015]. Азолы, попадая в окружающую среду, способны оказывать как прямое, так и опосредованное токсическое действие на экосистему. Азолы оказались весьма устойчивы к микробной деградации, но подвергаются фотолизу.

Полиеновые антибиотики — антимикотики природного происхождения, продуцируемые актиномицетами—*Streptomyces nodosum* (амфотерицин В), *Actinomyces levoris* Krass (леворин), *Streptoverticillium heptenicum* (микогептин), *Streptomyces noursei* (нистатин).

Полиены прочно связываются с клеточной мембраной грибов, нарушают ее целостность, что приводит к потере клеточных макромолекул, ионов и к лизису клетки. Механизм их действия раскрыт в

XX веке, их применение в терапии началось в 50-х годах прошлого века [Ghannoum et al., 1996].

Средства на основе азолов и полиеновых соединений (амфотерицин), представляют стандарт терапии для системного лечения грибковых инфекций [Sugar, 1986].

В отличие от азолов и полиенов, аллиламины блокируют более ранние стадии синтеза эргостерола. Механизм действия обусловлен ингибированием фермента скваленэпоксидазы, катализирующей вместе со скваленциклазой превращение сквалена в ланостерол. Это приводит к дефициту эргостерина и к внутриклеточному накоплению сквалена, что вызывает гибель гриба [Balkis et al., 2002].

Гризеофульвин является противогрибковым средством, которое обладает фунгистатическим действием по отношению к различным видам грибов. Гризеофульвин – является продуктом метаболизма плесневых грибов *Penicillium griseofulvum*, начало его применения относится к 60-м годам прошлого века. Его фунгистатический эффект обусловлен связыванием с димерами тубулина в микротрубочках клеточных ядер грибов, нарушением веретена деления, подавлением репликации ДНК, что приводит к угнетению митоза грибковых клеток на стадии метафазы. Кроме того, гризеофульвин нарушает внутриклеточный транспорт компонентов клеточной стенки гриба. [Ланчини, Паренти, 1985], однако по отношению *Scopulariopsis brevicaulis* он не эффективен [Gupta, 2001]. В настоящее время гризеофульвин используется в качестве орального противогрибкового препарата [Jadeja et al., 2015]. При приеме гризеофульвина и одновременном лечении антибиотиками пенициллинового ряда очень часто возникают кожно-слизистые аллергические осложнения [Кравец, 2010], однако, несмотря на некоторые неудобства при применении, препарат остается эффективным, а для улучшения свойств гризеофульвина продолжаются попытки его

модификации [Petersen et al., 2016]. Дерматомицеты чувствительны к гризеофульвину, кетоконазолу, флуконазолу, тербинафину, тогда как грибы рода *Candida*, плесневые и возбудители глубоких (висцеральных) микозов нечувствительны к гризеофульвину [Лещенко, 2004].

К противогрибковым препаратам других групп относятся циклопирокс и морфолины.

Циклопирокс- это производное гидроксипиридона. Он используется местно, в виде лака, мазей, суспензий и шампуней. Его можно применять при лечении различных микозов кожи, онихомикозов, при себорейном дерматите, отрубевидном лишае, кандидозе влагалища. Антигрибковая активность обусловлена действием хелатных трехвалентных катионов, что приводит к торможению металлозависимых ферментов, в частности цитохромов, каталазы, пероксидазы, что в свою очередь вызывает уменьшение транспорта ионов сквозь цитоплазматическую мембрану гриба и снижению потребления питательных веществ [Gupta et al., 2004].

Циклопирокс активен в отношении дерматофитов (*Trichophyton* spp., *Microsporum* spp., *Epidermophyton floccosum*), дрожжевых грибов (*Candida* spp., *Malassezia furfur*, *Cryptococcus neoformans*, *Sacchromyces cerevisiae*), плесени (*Aspergillus* spp., *Scopulariopsis brevicaulis*, *Fusarium solani*), что свидетельствует о широте его спектра действия [Tabara et al., 2015].

Аморолфин- это производное морфолина с фунгицидным и фунгистатическим действием. Механизм действия заключается в подавлении синтеза эргостерина на двух уровнях: путем ингибирования дельта-14-редуктазы и дельта 7-8 изомеразы, что приводит к истощению эргостерола, образованию нестандартных сферических стериннов к накоплению их цитоплазматической мембране гриба [Polak, 1992]. Аморолфин эффективен в отношении дерматофитов (*Trichophyton* spp., *Microsporum* spp., *Epidermophyton* spp.), дрожжей (*Candida* spp.,

Cryptococcus spp., *Malassezia* spp.), некоторой плесени (*Alternaria* spp., *Hendersonula* spp., *Scopulariopsis* spp.) [Finch, 2007].

Эхинокандины (анидулафунгин, каспофунгин, микафунгин)- группа антимикотических веществ грибного происхождения, которые нарушают синтез (1,3)- β -D-глюкана - основного компонента клеточной стенки грибов [Прокопов и др., 2008]. Исследования веществ этой группы начались около 20 лет назад. Каспофунгин представляет собой полусинтетическое липопептидное соединение, синтезированное из продукта ферментации *Glarealozoyensis*. Эхинокандины активны в отношении *Candida* spp., а также обладают активностью против различных патогенных грибов рода *Aspergillus*. Устойчивость к эхинокандам возникает в результате мутации гена FKS1, который кодирует большую субъединицу (1,3) - β -D-глюкансинтазы [Debono, Gordee, 1994].

В последние десятилетия в мире ведется обширная работа по поиску действующих веществ, отличающихся от существующих, для подавления развития микроскопических грибов, вызывающих различные заболевания растений и животных.

Различные модификации бензальдегидов показали фунгицидную активность в отношении некоторых видов микромицетов- *Aspergillus terreus*, *A.fumigatus*, *A. flavus*, а также дрожжей [Kim et al., 2013] .

Важную группу антимикотических веществ образуют гетероциклические соединения отличные от азолов [Becher et al., 2010, Vicentini et al., 2011].

Так, например, в Уфимском Институте нефтехимии и катализа совместно с Институтом биологии УНЦ РАН было синтезированы новые гетероциклические соединения, содержащие серу, которые *in vitro* проявляли фунгистатический эффект к *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* и фунгицидную активность по отношению к *Raecilomyces variotii* [Ахметова и др.,2012]. Другие

соединения – тридазолидинового ряда, а также их координированное метилиодидом производное оказывали фунгицидное действие на *Bipolaris sorokiniana* [Ахметова и др., 2013]. Дитиазепаны в концентрации 0,2% в лабораторных условиях полностью подавляли развитие *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* [Рахимова и др., 2013].

Синтезированы новые гетероциклические соединения, содержащие бензимидазол, проявляющие ингибирующую активность к *Candida albicans*, *A. flavus* и *A. niger* [Ansari, Lal, 2009].

Новые соединения хинолинового ряда в условиях *In vitro* показали свою активность по отношению к ряду грибов (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*) [Desai, Dodiya, 2011].

Несмотря на прогресс в разработке синтетических фунгицидов продолжают поиски антимикотических веществ природного происхождения. Так показано, что экстракты чеснока, лука и мяты (*Allium sativum*, *Allium cepa*, *Mentha arvensis*) ингибируют прорастание спор *Fusarium oxysporum* [Taskeen et al., 2011]. В красном прополисе содержатся изофлавоны, которые также можно применять в качестве фунгицидного агента против грибов рода *Candida* [Marques, 2016].

Новый антибиотик зопфейлин, выделенный из аскомицетов *Zopfiella curvata*, проявил фунгицидную активность в кислой области pH [Futagawaa et al., 2002].

Таким образом, онихомикозы относятся к одним из самых распространенных инфекционных заболеваний, основными возбудителями которых являются грибы родов *Trichophyton* (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*), *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Candida*, а также другие представители микромицетов. Существует огромное количество лекарственных препаратов для борьбы с грибами. Однако у грибов-возбудителей заболеваний со временем возникает резистентность (в том числе и перекрестная) к применяемым веществам и соединениям, что

обуславливает актуальность постоянного поиска новых, а также модификацию существующих антимикотических веществ.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследований

В качестве тест-объектов были выбраны микромицеты - *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Subram, *Rhizoctonia solani* J.G.Kiihn, возбудители болезней сельскохозяйственных растений, контаминирующие многие конструкционные материалы и способные вызывать микозы у человека и животных. В качестве представителя микромицетов рода *Trichophyton* был использован вид - *Trichophyton terrestre* Durie D.Frey. Связь с патологическим процессом для этого вида не установлена [Саттон, 2001]. В серии опытов для оценки действия новых соединений на дерматомицеты использовали дерматомицеты- *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* и *Microsporum canis* (предоставленные ГАУЗ РКВД №1 г. Уфы).

Из клинического материала нами был выделен и идентифицирован штамм *Chaetomium globosum*. Процедура выделения и идентификации описана ниже. Этот штамм был также включен в тест- систему.

Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Subram. Является одним из возбудителей корневой гнили злаков, пятнистости, или гельминтоспориоза листьев, зерновых колосьев, семян. Конидиеносцы выступают из пораженной ткани через устья или эпидермис, одиночные или в пучках по 2-3, до 220 мкм дл., 6-10 мкм толщ., хорошо развитые, узловатые, с неровными вздутиями, на каждом из которых формируется по одной конидии. Конидии с 5-13 ложными перегородками, ладьевидные или удлинено-яйцевидные, с закругленными концами, иногда слегка изогнутые, несимметричные, молодые-светло-оливковые, зрелые-от темно-оливковых до почти черных,

прорастают биполярно, 60-100 x 18-23 мкм. Телеоморфа- *Cochliobolus sativus* (Ito et Kuribay.) Drechs et Dastur [Билай и др., 1988].

Chaetomium globosum Kunze ex Fr. Данный гриб встречается повсеместно (в почве, воздухе, на растительных остатках) [Кириленко, 1978]. Плодовые тела круглые до овальных, темно-оливково-зеленые до серо-зеленых, с отросткам в нижней части. Верхушечные отростки длинные, слегка волнистые, с перегородками, шероховатые. Боковые отростками прямые или слегка волнистые, 2-3,5 мкм.толщ. у основания, с перегородками,гладкие до слабошероховатых. Сумки булавовидные, восьмиспоровые. Сумкоспоры лимоновидные, 8,8-10,8 x 7,2-8,4 мкм, слегка заостренные на концах, оливково-коричневые [Билай, 1988]. Гифы гриба септированные и бесцветные. Аскокарпы шаровидные, созревающие через 10 суток, обычно оливкового или серо-зеленого цвета с коричневатыми щетинками до 500 мкм. Является возбудителем ониомикоза, перитонита и различных кожных инфекций [Саттон, 2001].

Fusarium oxysporum Schlecht. Snyd. et Hans. Возбудитель трахеомикозного увядания и корневой гнили. Описано 80 более или менее специализированных форм. Воздушный мицелий пленчато-паутинистый, невысокий, окрашен в различные оттенки розово-карминно-лилового цвета, реже в белый или светло-желтый. Имеются склероции. Макроконидии образуются в воздушном мицелии, редко в споридиях, и пионнотах, веретеновидно-серповидные, эллипсоидально изогнутые или почти прямые, цилиндрические, с тонкой оболочкой, с 3-5 перегородками. Размеры макроконидий с 3 перегородками - 25-40x3,7-5 мкм, с пятью – 30-50x3,5мкм. Микроконидии обильно образуются на длинных цилиндрических конидиеносцах, образуют ложные головки или скопление вокруг гиф, овально-цилиндрические, с обоими закругленными концами, длина их в 2-4 раза превышает ширину 10,8-18,6 x 1,5-3 мкм. Хламидоспоры обильные, промежуточные и верхушечные, одно-

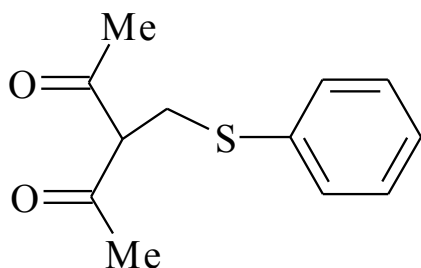
двухклеточные, неокрашенные. Поражают многие растения, свыше 150 видов [Билай,1988]. Штаммы вида могут вызывать кератит, перитонит, кожные и диссеминированные инфекции у человека [Саттон, 2001].

Rhizoctonia solani J.G. Kiihn- возбудитель бурой и сухой гнили, или ризоктониоза. Мицелий образует сплетения и черные склероции, крепко приросшие к субстрату, на подземных органах растений. Гифы коричневые, местами бесцветные, 6-10 мкм. Телеоморфа- *Pellicularia filamentosa* Sprague. Является факультативным паразитом. Плодовые тела круглые овальные, 270-350 x 230-280 мкм, темно-оливкового до черных, с отростками, в нижней части с ризоидами. Верхушечные отростки многочисленные, волнистые, 2,5-3,5 мкм толщ. у основания, с перегородками, слабошероховатые, оливково-коричневые. Боковые отростки прямые или слегка. Склероции зимуют в почве и на растительных остатках. Болезнь развивается на холодных кислых почвах с избыточным увлажнением. Поражают свыше 230 видов однодольных и двудольных сельскохозяйственных растений [Билай,1988].

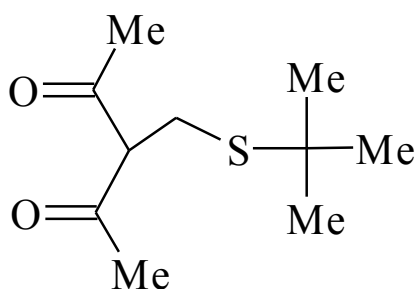
Trichophyton terrestre Durie D.Frey. - это геофильный вид, который часто выделяется из почвы или как сапрофит на шкуре и шерсти мелких животных. Колонии от зернистых до пушистых, от кремовых до желтых, у некоторых штаммов с пигментацией обратной стороны – от светло-желтой до красной. Гифы септированные, бесцветные с булавовидными или снабженными ножками микроконидиями (4-7x1-5 мкм), располагающимися непосредственно на вегетативных гифах или на ножках. Отделившиеся микроконидии имеют выраженный рубчик на месте прикрепления. Макроконидии размером 10-50x4-5 мкм, цилиндрические, многоклеточные, с закругленными концами. Связь с инфекциями человека или животных не установлена [Саттон,2001].

2.2. Соединения, использованные в экспериментальной работе

В качестве новых действующих веществ были использованы новые соединения, синтезированные в Институте нефтехимии и катализа РАН. Структурные формулы и названия соединений представлены на рис.4.



3-[(Фенилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион (условное обозначение - ANS-11)

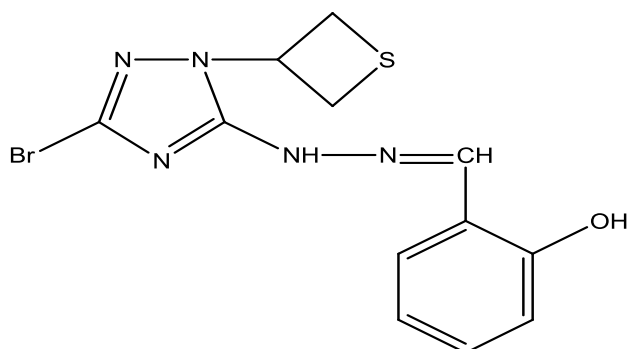


3-[(Трет-бутилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион (ANS-12)

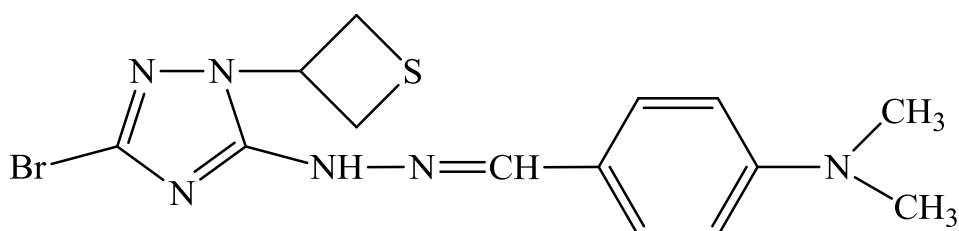
Рисунок 4. Структурные формулы и названия изучаемых соединений.

Кроме того, была проведена оценка действия ряда модифицированных соединений на основе азолов (гидразоны), синтезированных на кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии и предоставленных сотрудником Магадеевой Гульназ Фатиховной. На рис. 5 представлены их структурные формулы и названия.

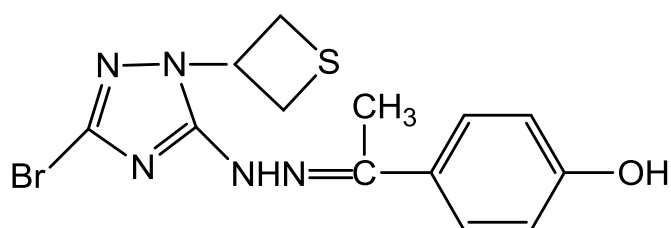
1) 5-(2-Гидроксифенил) метилиденгидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г-172)



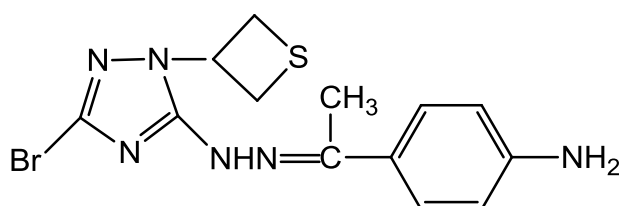
2) 5-(4-Диметиламинофенил) метилиденгидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г -185)



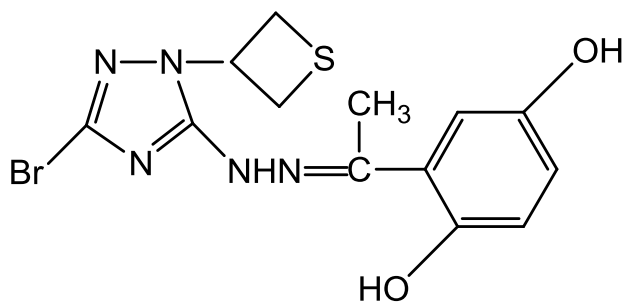
3) 5-[1-(4-Гидроксифенил) этилиден]гидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г-187(1))



4) 5-[1-(4-Аминофенил) этилиден]гидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г- 179)



5) 5-[1-(2,5-Дигидроксифенил) этилиден] гидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г-192)



6) 5-(5-Бром-2-гидроксифенил) метилиденгидразино-3-бром-1-(1,1-диоксотетанил-3)-1,2,4-триазол (Г-182)

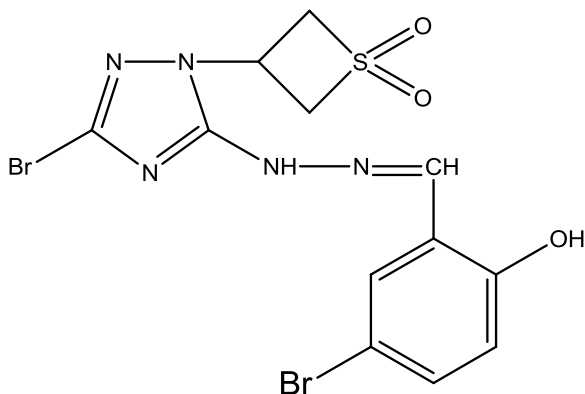


Рисунок 5. Структурные формулы и названия гидразинов.

В качестве препарата сравнения был использован коммерческий препарат Дифлюкан («Пфайзер ПГМ, Франция), предназначенный для внутривенного введения и содержащий 2мг/мл флуконазола.

Все испытанные соединения были использованы в форме растворов различной концентрации в ДМФА (N,N-Диметилформамид, $(\text{CH}_3)_2\text{NC(O)H}$). Оценка фунгицидного действия растворителя не выявила его отрицательного влияния на развитие тест-объектов.

2.3. Методы исследований

2.3.1. Среда для культивирования микроскопических грибов

Для выделения и культивирования микроскопических грибов использовали картофельно-глюкозный агар и среду Сабуро.

Для приготовления картофельно-глюкозного агара клубни картофеля, отобранные для приготовления этой среды, тщательно помыли, очистили от кожуры, глазков и испорченных мест и снова помыли. Мелко нарезали картофель (200 г) залили 1 л водопроводной воды и прокипятили 30 минут. Отвар профильтровали через вату, довели объем фильтрата до 1 л и разлили в сосуды для культивирования. Внесли агар из расчета 20 г/л. Среду простерилизовали 30 мин при 1 атмосфере [Нетрусов, 2005]. Раствор глюкозы (2%) стерилизовали отдельно и добавили в картофельный агар перед разливом среды в чашки.

Состав среды Сабуро (агар), для культивирования дрожжевых и плесневых грибов (г/л): пептон ферментативный сухой-7,0, гидролизат ферментативный белковый-3,0, глюкоза кристаллическая гидратная – 40,0, экстракт автолизированных дрожжей осветленный-4,0, агар микробиологический-12,0.

Приготовление среды заключалось в следующем: 66 г сухой среды развели в 1 л воды очищенной, довели до кипения, кипятили 1-3 мин до полного растворения, охладили, откорректировали pH (5,5-5,7). Снова довели до полного расплавления агара. Стерилизовали при температуре 112⁰ С в течении 20 мин. Среду охладили до 45-50⁰ С, разлили в стерильные чашки Петри [Лещенко, 1977].

2.3.2. Выделение грибов из клинического материала

Отбор образцов и выделение микромицетов из клинического материала были проведены в условиях ГАУЗ Республиканский кожно-венерологический диспансер №1 г.Уфы. Пациент- мужчина 63 лет, обратился по поводу поражений ногтей на ногах. Кусочки ногтей были асептически отобраны, фрагментированы и размещены на поверхности агаризованной среды Сабуро в чашки Петри. После инкубирования при комнатной температуре (20-25⁰ С) в течение 2 недель [Меньшикова, 2009], в чашках обнаружился рост двух типов колоний – белые, плотные и темно-зеленые. Изоляты были выделены в чистые культуры путем отсева на среду КГА. Идентификацию изолятов проводили по культурально-морфологическим признакам [Кириленко, 1978]. Поддержание штамма осуществляли на среде КГА путем периодических пересевов.

2.3.3. Метод оценки фунгицидного действия новых соединений

Для оценки действия новых соединений использовали метод диффузии в агар. На поверхность агаризованной среды КГА, разлитой по 20 мл в стандартные чашки Петри диаметром 90 мм, наносили 100 мкл суспензии тест-культуры, шпателем тщательно растирали по поверхности для получения равномерного сплошного роста гриба. Пробочным сверлом в среде вырезали 4 лунки в каждой чашке Петри. В лунки вносили по 100 мкл исследуемого вещества. Для каждого вещества и каждого тест-объекта использовали отдельную чашку Петри. Повторность трехкратная. Контролем служило развитие тест-культуры на чашке со средой КГА [Нетрусов, 2005].

Для приготовления суспензии тест-культур каждую из них выращивали на среде КГА в течение 7 суток до стадии спорообразования.

Микологическим крючком собирали споры или хламидоспоры (для *R.solani*) с поверхности колонии и переносили в пробирку со стерильной водопроводной водой. Титр суспензии определяли в камере Горяева стандартным способом, добиваясь уровня 10^5 КОЕ/мл [Нетрусов, 2005].

Оценку развития тест-объектов проводили визуально, в том числе с использованием микроскопа Leica DM-2000 при увеличении $\times 10$. Оценивали развитие культуры, при наличии зоны подавления роста измеряли ее диаметр. Измерение проводили в двух взаимно перпендикулярных направлениях, диаметр зоны действия рассчитывали, как среднее арифметическое из полученных значений.

Статистическую обработку результатов проводили, используя критерий Стьюдента на 5% уровне значимости.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Выделение и идентификация изолятов из клинического материала.

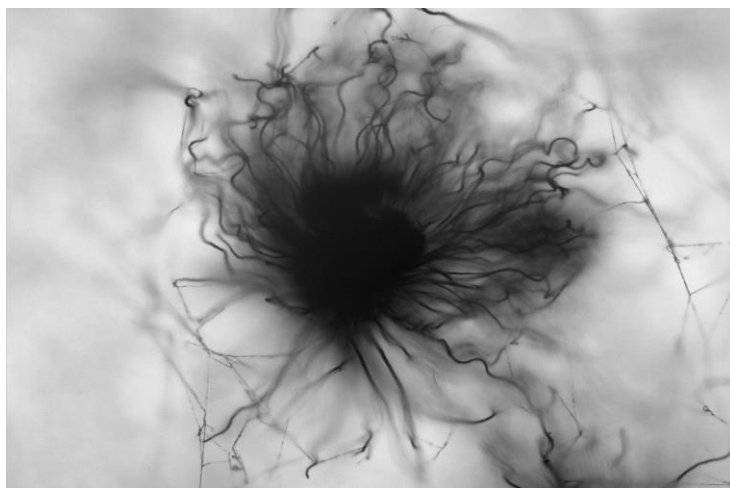
Клинический материал в виде фрагментов ногтей был размещен на поверхности среды Сабуро и инкубирован при комнатной температуре в течение 3 недель. По окончании инкубации были обнаружены колонии двух типов – белые плотные и темно-зеленые. Изоляты были выделены в чистые культуры путем отсева на среду КГА. Для белого изолята не удалось добиться спороношения на использованных средах, он был отнесен к стерильным формам и не использован в дальнейших исследованиях. Другой изолят образовывал спороношения и по совокупности признаков был идентифицирован как *Chaetomium globosum* (рис. 6).



Рисунок 6. Рост грибов на фрагментах ногтей

Колония темно-оливково зеленая, за счет формирования плодовых тел. Вегетативный мицелий светлый. Плодовые тела округлые с отростками (диаметр аскокарпов без отростков 110-200 мкм), отростки шероховатые с перегородкам, волнистые. Сумкоспоры широкоовальные (10x7,5 мкм) (рис.7).

А



Б

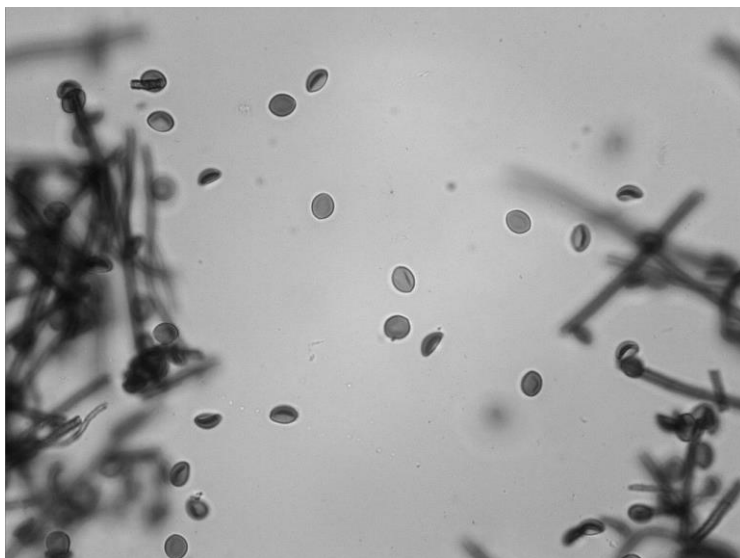


Рисунок 7. Плодовое тело (А, x10) и аскоспоры (Б, x40)

Chaetomium globosum

Связь выделенного изолята с заболеванием у пациента не доказана, однако, учитывая литературные данные [Tullio et al., 2010], мы сочли

необходимым включить этот изолят в тест-систему для оценки фунгицидной активности новых соединений.

3.2. Оценка фунгицидной активности новых соединений *in vitro*

В первой серии экспериментов изучали влияние соединений ANS-11 и ANS-12 на развитие тест-культур. Результаты представлены в таблице 1,2 и на рисунках 8-9. Как видно из таблицы 1 через 4 суток изученные концентрации ANS-11 подавляли развитие всех видов микромицетов. Исключение составил лишь *B.sorokiniana*, споры которого начали прорастать, формируя ростковые трубки в вариантах с 0,1 и 0,5% вещества.

Дальнейшая инкубация показала, что некоторые из микромицетов сумели преодолеть влияние изучаемого вещества. Так *F.oxysporum* в вариантах с 0,1 и 0,2% вне зоны действия вещества развивал воздушный мицелий и образовывал споры (рис. 8). Однако концентрация ANS-11 (0,5%) полностью подавляла развитие этого гриба. *C. globosum* через 10 суток также сумел преодолеть негативное влияние изучаемого вещества. В присутствии ANS-11 развитие гриба нарушалось – формировались нетипичные микроколонии, деформированный мицелий, задерживалось развитие плодовых тел (рис.10 (Б)). Роста остальных видов микроскопических грибов через 10 суток не обнаруживалось. Следует особо отметить, что это вещество в концентрациях 0,1 и 0,5% полностью подавляло развитие возбудителей дерматомикозов. Полученный результат свидетельствует о потенциальной возможности использования этого соединения для разработки лекарственного средства для лечения онихомикозов.

Таблица 1

Оценка влияния ANS-11 на развитие тест-культур грибов
(зона подавления роста, мм)

Тест-культуры	Время инкубации, сутки						Контроль
	4			10			
	Концентрация действующего вещества, %						
	0,1	0,2	0,5	0,1	0,2	0,5	
<i>F. oxysporum</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	28,5±5,9	33,5 ±9,5	Роста нет	Спорообразова- ние
<i>B.sorokiniana</i>	Прорастан ие	Роста нет	Прорастание	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Развитый воздушный мицелий
<i>R.solani</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Формирование хламидоспор
<i>T.terrestre</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Спорообразова- ние
<i>T.rubrum</i>	Роста нет	-	Роста нет	Роста нет	-	Роста нет	Спорообразова- ние
<i>T.mentagrophytes</i>	Роста нет	-	Роста нет	Роста нет	-	Роста нет	Спорообразова- ние

<i>M.canis</i>	Роста нет	-	Роста нет	Роста нет	-	Роста нет	Спорообразова- ние
<i>C.globosum</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Начало формирований плодовых тел. Плодовые тела деформиро- ваны	Микроколо- нии. Начало формировани я плодовых тел	Формирова- ние микроколо- ний. Начало формировани я плодовых тел	Начало формирования плодовых тел

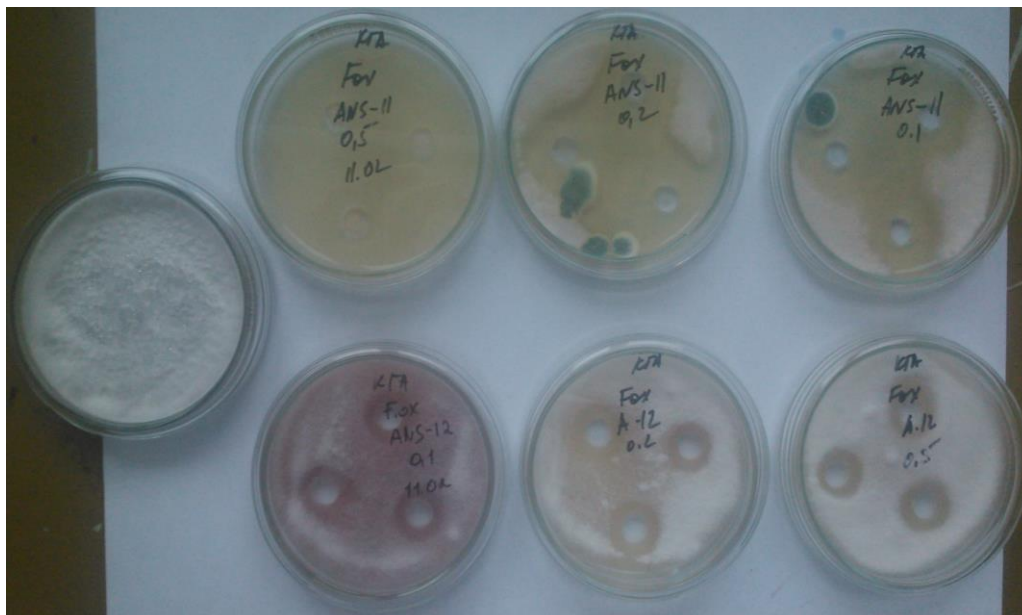


Рисунок 8. Влияние испытываемых соединений на развитие *Fusarium oxysporum* (14 сутки), (слева - контроль).

На некоторых чашках произошла контаминация, в связи с открыванием чашек. В верхнем ряду представлено действие ANS -11, на нижнем -ANS -12.

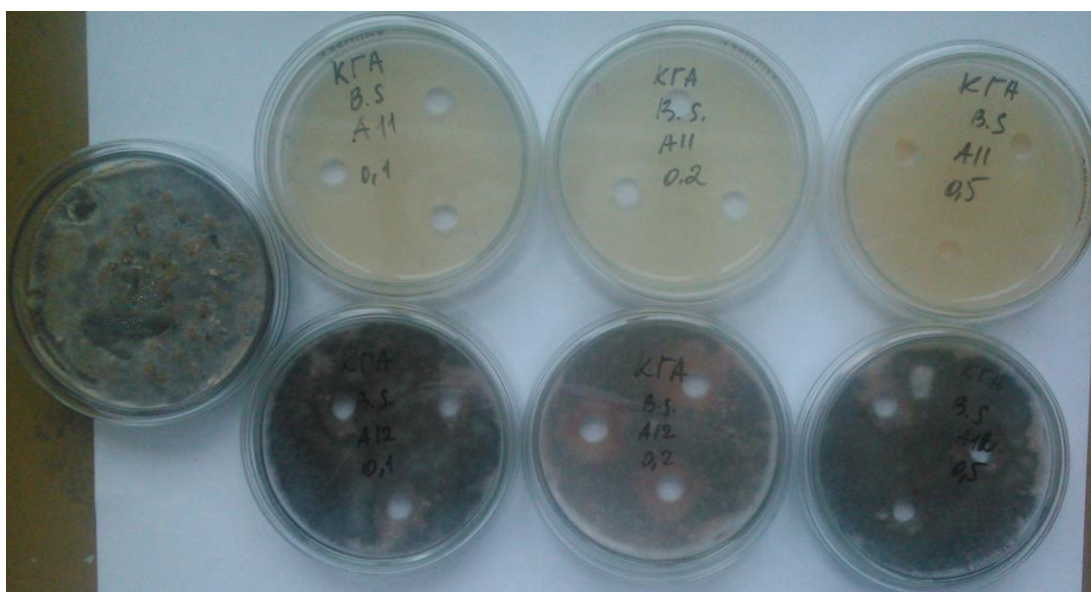


Рисунок 9. Влияние испытываемых соединений на развитие *Bipolaris sorokiniana*, (14 сутки), (слева - контроль). В верхнем ряду представлен ANS -11, на нижнем -ANS -12.

В таблице 2 и на рис 10-11 представлены результаты исследования влияния соединения ANS-12 на изучаемые тест-культуры. При исследовании, на 10 сутки было обнаружено, что вещество в концентрации 0,1 и 0,2 % не оказывало негативного влияния на развитие *F. oxysporum*, а в более высокой концентрации (0,5%) оказывало слабое фунгистатическое действие, задерживая спорообразование (рис.8). На рост *B. sorokiniana* соединение ANS-12 существенного воздействия не оказало (рис.9). Грибы рода *Trichophyton* по-разному реагировали на ANS-12. Почвенный вид *T. terrestre* в присутствии этого соединения замедлял свое развитие, причем концентрации 0,2 и 0,5% предотвращали рост гриба в зоне своего действия. Не выявлено влияния величины концентрации вещества на проявление фунгицидного эффекта. Рост патогенных видов *T. mentagrophytes* (рис.11) и *T. rubrum* полностью подавлялся при использовании вещества в концентрации 0,5%. ANS-12 полностью угнетал развитие *M. canis* в изученных концентрациях. При исследовании влияния вещества на клинический изолят *C. globosum* было обнаружено, что соединение вызывает задержку развития гриба, что свидетельствует о его фунгистатическом действии (рис.10 (Г)). Полученные данные показывают, что соединение ANS-12 также может быть использовано для разработки лекарственного средства для лечения дерматомикозов. Оба изученных вещества представляют собой органические соединения серы. Известно, что включение серы в состав молекул повышает фунгицидную активность вещества [Кирлан и др., 2012], очевидно испытанные соединения проявляют фунгицидную активность, в том числе и за счет содержания серы.

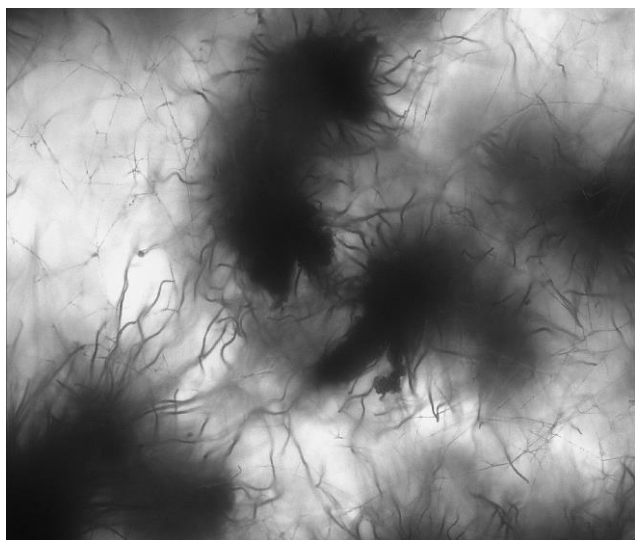
Таблица 2

Оценка влияния ANS-12 на развитие тест-культур грибов
(зона подавления роста, мм)

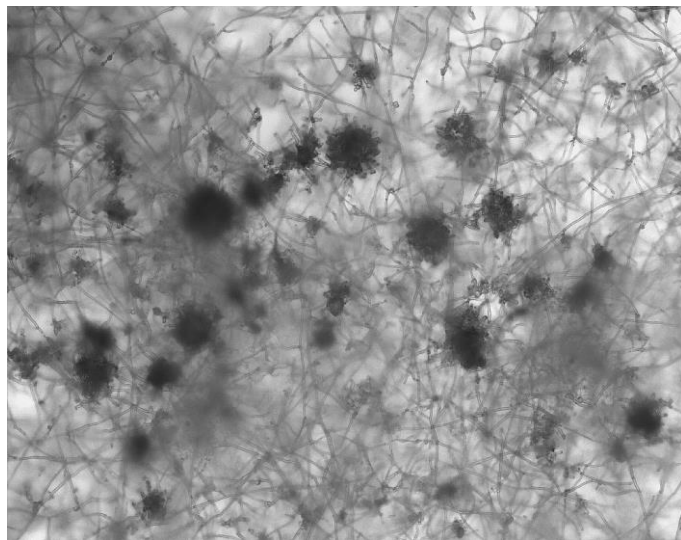
Тест-культуры	Время инкубации, сутки						Контроль
	4			10			
	Концентрация действующего вещества, %						
	0,1	0,2	0,5	0,1	0,2	0,5	
<i>F. oxysporum</i>	Спорообразо- вание	Спорообразо- вание	Прорастание спор	Спорообразо- вание	Спорообразо- вание	Спорообразо- вание	Спорообразо- вание
<i>B.sorokiniana</i>	В зоне контакта -нет развития, вне - Начало спорообразов ания	Прорастание спор	В зоне контакта-нет развития ,вне - развитый воздушный и субстратный мицелий	В зоне контакта -нет развития, вне - начало спорообразов ания	Развитый воздушный мицелий	Развитый воздушный мицелий	Развитый воздушный мицелий
<i>R.solani</i>	В зоне контакта прорастания спор нет,	В зоне контакта прорастания спор нет,	В зоне контакта прорастания спор нет,	Образование хламидоспор	В зоне контакта прорастания спор нет,	В зоне контакта прорастания спор нет,	Формирование хламидоспор

	вне-развитый субстратный мицелий	вне -развитый субстратный мицелий	вне -развитый субстратный мицелий		вне -развитый субстратный мицелий	вне -развитый субстратный мицелий	
<i>T.terrestre</i>	В зоне контакта: прорастани, вне-развитый мицелий	В зоне контакта- прорастание, вне-ветвление	В зоне контакта прорастание, вне-ветвление	Спорообразов ание	18,17±2,19	18,17±4,78	Спорообразо- вание
<i>T.rubrum</i>	Роста нет	-	Роста нет	Спорообразов ание	-	Роста нет	Спорообразо- вание
<i>T.mentagrophytes</i>	Рост	-	Роста нет	Рост	-	Рост	Спорообразо- вание
<i>M.canis</i>	Роста нет	-	Роста нет	Роста нет	-	Роста нет	Спорообразо- вание
<i>C.globosum</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Зачатки плодовых тел	Зачатки плодовых тел	Зачатки плодовых тел	Формирование плодовых тел

А



Б



Г



Рисунок 10. Влияние соединений ANS на развитие *Chaetomium globosum* 10 сутки инкубирования (микрофотографии x10, А- контроль, Б- ANS-11, Г- ANS-12).



Рисунок 11. Влияние ANS-12 на развитие
Trichophyton mentagrophytes (14 сутки), (слева контроль)

В следующей серии экспериментов было изучено влияние шести соединений являющихся модификациями азола.

В таблице 3 и на рис.12(А) представлены результаты изучения действия Г-172, Г-185, Г-187(1) на тест-объекты. Как видно из таблицы вещества Г-172, Г-185 в концентрации 0,5% не подавляли развитие микромицетов. У исследуемых культур при этом наблюдался развитый субстратный мицелий и спорообразование. Лишь вещество Г-187 (1) подавляло развитие *B.sorokiniana* в зоне своего действия, что, вероятно, свидетельствует о контактном механизме его влияния. Фунгицидный эффект этого соединения сопоставим с воздействием на этот вид флуконазола (таблица 5). Влияние изученных соединений на *C.globosum* проявилось в задержке его развития по сравнению с контрольным вариантом, а также формирование нетипичного, депигментированного мицелия, что позволяет рассматривать влияние этого вещества как слабое фунгистатическое. Ранее при проведении исследований по биологической активности соединений Г-172 и Г-187 по отношению к ряду

Таблица 3

Оценка влияния Г-172, Г-185, Г-187(1) на развитие тест-культур грибов (0,5%)

Тест – культуры	Время инкубации, сутки						
	7 суток			14 суток			Контроль
	Г-172	Г-185	Г-187(1)	Г-172	Г-185	Г-187(1)	
<i>F.oxysporum</i>	Спорообра- зование	Развитый субстратный мицелий	Спорообра- зование	Спорообра- зование	Развитый субстратный мицелий	Спорообра- зование	Спорообра- зование
<i>B.sorokiniana</i>	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Развитый субстратный и воздушный мицелий	22,625±6,95	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Развитый субстратный и воздушный мицелий	17,75±9,425	Спорообра- зование
<i>C.globosum</i>	Развитый воздушный депигменти- рованный мицелий	Развитый воздушный депигменти- рованный мицелий	Слабое развитие воздушного мицелия	Развитый воздушный депигменти- рованный мицелий	Развитый воздушный депигменти- рованный мицелий	Развитый воздушный депигменти- рованный мицелий	Созревание плодовых тел, выход спор

клинических штаммов бактерий (*E.coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*) не было выявлено их бактерицидного действия [Клен и др., 2008]. Наши результаты показали, что вещество Г-187 обладает фунгицидным действием, что вероятно обусловлено его воздействием на синтез специфических соединений микромицетов.

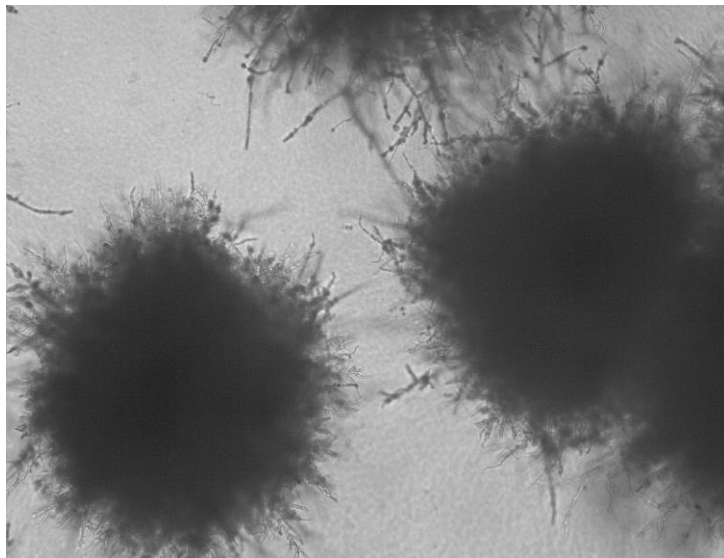
В таблице 4 и на рис.12(Б) отражены результаты влияния соединений Г-189, Г-192, Г-182 на тест-культуры. Было показано, что вещества Г-189 и Г-182 на начальных стадиях инкубации задерживали развитие *B.sorokiniana*. Прорастание спор *T.terrestre* подавляли вещества Г-189 и Г-192. После двухнедельной инкубации было обнаружено, что практически все тест-культуры преодолели негативное воздействие изучаемых веществ. Их развитие в присутствии новых соединений практически не отличалось от развития в контрольном варианте. Лишь соединение Г-182 подавляло развитие *C.globosum* в зоне своего действия.

Таблица 4

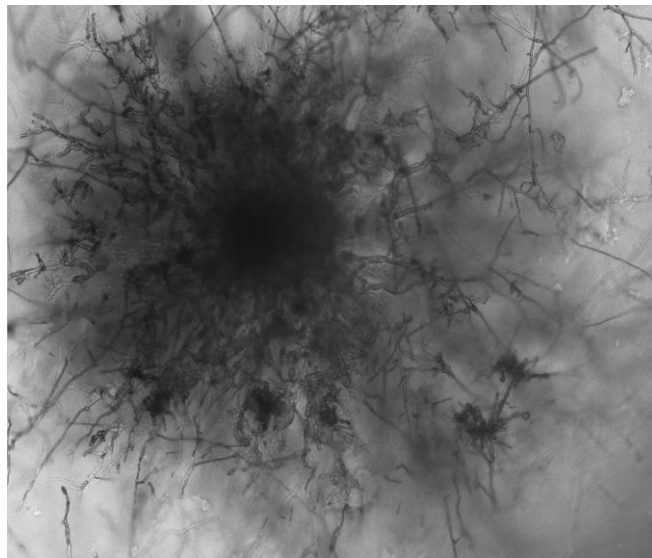
Оценка влияния Г-189, Г-192, Г-182 на развитие тест-культур грибов (0, 5%)

Тест – культуры	Время инкубации, сутки						
	7 суток			14 суток			Контроль
	Г-189	Г-192	Г-182	Г-189	Г-192	Г-182	
<i>F.oxysporum</i>	Развитый субстратный мицелий	Развитый субстратный мицелий	Развитый субстратный мицелий	Развитый субстратный мицелий	Развитый субстратный мицелий	Развитый субстратный мицелий	Спорообразование
<i>B.sorokiniana</i>	Нет прорастания спор	Развитый субстратный мицелий	Нет прорастания спор	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Спорообразование
<i>T.terrestre</i>	Нет прорастания спор	Нет прорастания спор	Развитый субстратный и воздушный мицелий	Спорообразование	Спорообразование	Спорообразование	Спорообразование
<i>C.globosum</i>	Начало образования плодовых тел	В зоне действия-мелкие плодовые тела	В з/д мицелий отсутствует, сильно фрагментированный мицелий	Развитый фрагментированный мицелий, плодовых тел нет	Развитый фрагментированный мицелий	20,5±9,2	Выход спор из сумок

А



Б



Г

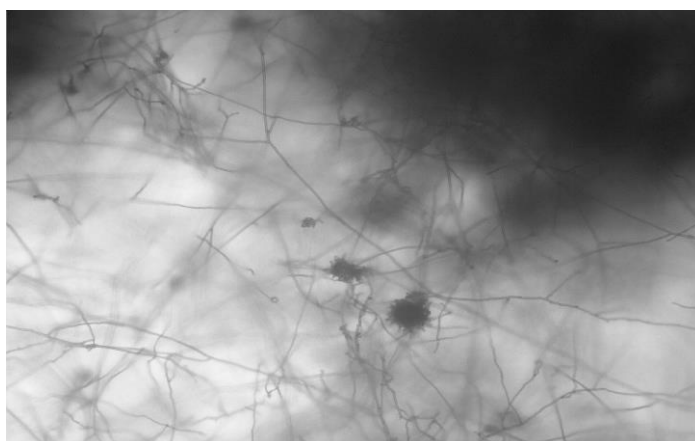


Рисунок 12. Влияние соединений Г-187(1), Г- 192 и флуконазола на развитие *C.globosum* (А-Г-187(1), Б-Г-192, Г- флуконазол)

В таблице 5 и на рис.12 (Г) представлены результаты изучения действия флуконазола на тест-объекты. Препарат сравнения не обладал выраженным фунгицидным эффектом по отношению большинству изучаемых микромицетов. Лишь для *B.sorokiniana* показано фунгицидное действие флуконазола в зоне действия, проявляющееся на 14 сутки культивирования.

Таблица 5

Оценка влияния флуконазола на развитие тест-культур грибов

Тест – культуры	Время инкубации, сутки		Контроль
	7 суток	14 суток	
<i>F.oxysporum</i>	Спорообразование	Спорообразование	Спорообразование
<i>B.sorokiniana</i>	Вне зоны контакта- спорообразование	22,375±3,77	Спорообразование
<i>T.terrestre</i>	В зоне контакта - развитый мицелий, Вне - начало спорообразования	Спорообразование	Спорообразование
<i>C.globosum</i>	Спорообразование	Спорообразование	Выход спор из сумок

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поверхностные дерматомикозы (в том числе и онихомикозы) являются распространенным инфекционным заболеванием существенно ухудшающим качество жизни человека. В настоящее время существуют эффективные препараты для подавления развития дерматомицетов. Однако в связи с развитием у возбудителей микозов резистентности (в том числе и перекрестной) существует постоянная необходимость поиска новых и модификации существующих действующих веществ. Нами *in vitro* была изучена фунгицидная активность двух новых соединений класса γ -(2,4-пентадион-3-ил) сульфидов по отношению к микроскопическим грибам, вызывающим различные заболевания. Показано, что оба соединения в концентрации 0,5% подавляли развитие *Microsporum canis* и *T.rubrum*. Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности использования этих соединений для разработки лекарственных средств для лечения дерматомикозов. Кроме того при изучении фунгицидной активности новых соединений триазолового ряда было показано, что два соединения были способны подавлять развитие *Bipolaris sorokiniana* (5-[1-(4-гидроксифенил) этилиден] гидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол) и *Chaetomium globosum* (5-(5-Бром-2-гидроксифенил) метилиденгидразино-3-бром-1-(1,1-диоксотетанил-3)-1,2,4-триазол).

ВЫВОДЫ

1. Из клинического материала выделен и идентифицирован по культурально-морфологическим признакам изолят- *Chaetomium globosum*.

2. Изучено влияние γ -(2,4-пентадион-3-ил) сульфидов на развитие ряда микромицетов. Показано, что 3-[(Фенилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион(ANS-11) в концентрации 0,5% полностью предотвращало рост всех изученных видов микроскопических грибов. Другое соединение- 3[(Трет-бутилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион(ANS-12) в концентрации 0,5% не оказывало значимого негативного влияния на рост *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* и *Chaetomium globosum*, но полностью предотвращало развитие *Microsporum canis* и *T.rubrum*,

3. Изучено влияние на развитие тест-культур микроскопических грибов шести новых соединений триазлового ряда. Показано, что два соединения (в концентрации 0,5%) проявили фунгицидную активность . 5-[1-(4-гидроксифенил) этилиден] гидразино-3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол (Г-187(1)) угнетал развитие *Bipolaris sorokiniana*, Г-182 в концентрации 0,5 % угнетал развитие *Chaetomium globosum*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев В.А., Зачиняева В.А., Москалев А.В и др. Медицинская микология: руководство/ В.А.Андреев, А.В. Зачиняева, А.В.Москалев, В.Б. Сбойчаков; под ред. В.Б. Сбойчакова.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. -208с.
2. Ахметова В.Р., Махмудиярова Н.Н., Бушмаринов И.С.и др. Синтез и фунгицидная активность алкил(арил)замещенных 1,3,4-тиадиазолидинов// Химия гетероциклических соединений.-2013.-№8.- С.1311-1319.
3. Ахметова В.Р., Мурзакова Н.Н., Тюмкина Т.В. и др. Новые 1,5-дифенил-3-азепаны: трехкомпонентный синтез, стереохимия и фунгицидная активность //Известная Академии наук.-2012.-№ 11.-С.2007-2176.
4. Белоусова Т.А., Горячкина М.В. Современный взгляд на проблему онихомикоза// Фарматека.- 2010.-№11(205).-С.15-17.
5. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г., и др. Микроорганизмы - возбудители болезней растений.- Киев: Наук. Думка.-1988.-552с.
6. Дукович Е. В. Характеристика патохимических процессов в организме при онихомикозах: Автореферат: 09.11.2007/ Башкирский гос. мед. ун-т. – Уфа.,-2007.- 23 с.
7. Дьяков Ю.Т., Шнырева А.В., Сергеев А.Ю. Введение в генетику грибов: учебное пособие. – М: Академия.-2005.-304 с.
8. Дьяков Ю.Т., Сергеев Ю.В. Новое в систематике и номенклатуре грибов: учеб. пособие. - М: Национальная академия микологии//Медицина для всех.-2003. -164-192с.
9. Дьяков Ю.Т., Сергеев А.Ю. Микология сегодня.- М.: Национальная академия микологии, 2011.-292с. (В 2Т:/ Под ред. Сергеева А.Ю.; Т.2.).

10. Дьяков Ю.Т., Новое в систематике и номенклатуре грибов. Под. ред. Ю. Т. Дьякова и Ю. В. Сергеева. М.: Национальная академия микологии, Медицина для всех, 2003 с. 382-402.
11. Иванов О.Л., Ломоносов К.М. Орунгал: итоги и перспективы применения при дерматомикозах // Вестн. дерматол.- 1997.- № 3.- С. 54-59.
12. Кирлан С.А., Тюрина М.А., Сементеева Л.Ш. и др. Влияние строения органических веществ на фунгицидность в рамках пестицидных свойств//Башкирский химический журнал.- 2012.-Т.19. -№ 4.- 111-113с.
13. Клен Е.Э., Исхакова Г.Ф., Халиуллина Ф.А и др. Синтез и биологическая активность тиетаносодержащих 5-илиденгиразино-3-бром-1,2,4-триазолов//Башкирский химический журнал.- 2008.-Т.15.-№3.-110-114с.
14. Кравец Е.В. Клинико-эпидемиологические особенности микроспории у детей в современных условиях и разработка новых методов терапии: Дис...канд. мед. наук: 14.01.20.- Донецк.,-2002.- 142с.
15. Кравец Е.В. Особенности клиники и лечения микроспории гладкой кожи и волосистой части головы у детей с атопическим дерматитом / / Сборник научных трудов сотрудников КМАПО им. П.Л. Шупика. - Киев, 2002. - Вып. 11, Т. 1. - С.98-102
16. Кириленко Т.С. Определитель почвенных сумчатых грибов.- К: Наукова думка.- 1978.- 264с.
17. Кнунянц И. Л. Химическая энциклопедия// Современная энциклопедия.– М., 1988.-Т.1.-623 с.
18. Лещенко В.М. Морфология, физиология, экология грибов/ Materia medica. Ежеквартальный бюллетень для врачей и фармацевтов.- 1997.- № 2.- С. 5-9.
19. Латыпов А.Б. К вопросу о заболеваемости микозами в Республике Башкортостан // Иммунология, аллергология, инфектология.- 2010.- № 1.- С. 176.

20. Лещенко В.М. Современные антимикотики в дерматологии/ *Consilium Medicum*, 2004; № 6 (3): с.186–91.
21. Ломоносов К.М. История развития системных антимикотиков: от структуры к эффективности // *Успехи медицинской микологии*.- 2007.- Т. 10.- с. 125-126.
22. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х томах. Том 1.: учебник/Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
23. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005.-196с.
24. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. учеб пособие. -М: Изд-во МГУ, 1988.-220с.
25. Мюллер Э, Леффлер В. Микология: Пер. с нем.-М.: Мир, 1995.- 343 с.: ил.
26. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. Т.3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний/ Под ред. В.В.Меньшикова.- М.: Лаборатория, 2009. - 880с.29. Новоселов В.С., Новоселов А.С. Рациональные подходы к терапии поверхностных микозов // *Consilium medicum*.- 2007.- Т. 9.- № 1.- С. 24-27.
27. Нетрусов А.Н., Егорова М.А., Захарчук А.М. Практикум по микробиологии. Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений/ Под ред. А.И. Нетрусова.- М.; Издательский центр Академия.- 2005.-608с.
28. Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Телишевская Л.Я., Панин А.Н. Протеолитические ферменты дерматофитов, гидролизующие структурные белки // *Успехи медицинской микологии*.- 2004.- Т. 3.- С. 35-36.

29. Пупкова М.А. Определение кератинолитической активности некоторых микромицетов: (обзор) // Проблемы медицинской микологии.- 2010.- Т. 12.- № 2.- С. 53-58

30. Прокопов И.А., Корчененкова Е.А., Дигтярь А.В. Молекулярные исследования молекул-мишеней в клетках патогенных грибов для преодоления лекарственной устойчивости к эхинокандинам // Современная микология в России. Т.2. Материалы 2-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2008.- с.298-299

31. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб.: ЭЛБИ - СПб – 2008.-352 с.

32. Покровский В.И. Малая медицинская энциклопедия. — М.: Медицинская энциклопедия, Том 6.-М.: Медицина, 1996. — 544 с.: ил.

33. Покровский В.И. Энциклопедический словарь медицинских терминов. — М.: Советская энциклопедия, 1984,-1591с.

34. Рукавишникова В.М. Эпидемиология, патогенез, клиника, лечение и профилактика микозов стоп // Materia medica. Ежеквартальный бюллетень для врачей и фармацевтов. Российская медицинская ассоциация. М: ФАРГУС ПРИНТ.- 1997.- Т. 2.- № 14.- С. 11-40

35. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи: руководство для врачей (2-е изд.). СПб: Издательство «Питер», 2000. - 288 с.

36. Рахимова Е.Б., Исмагилов Р.А., Зайнуллин Р.А., Галимзянова Н.Ф., Ибрагимов АГ. Синтез α,ω -бис-1,5,3-дитиазепанов и их фунгицидные свойства/ Журнал прикладной химии.-2013, Т. 86, вып.10.- с.1547-1551

37. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов; Пер. с англ.- М.:Мир,2001.-486 с., ил.

38. Саркисян Э. Ю., Нелипович Д.В., Осипян Л.Л. Встречаемость онихомикоза в Армении по данным медицинского центра «NEW MED». В

кн.: Успехи медицинской микологии. Т. 10: Под ред. Сергеева Ю.В. М.: Национальная академия микологии, -2007.-с. 13-1440.

39. Сергеев А.Ю, Сергеев Ю.В Грибковые инфекции: Руководство для врачей.,2 изд.-М.: Издательство БИНОМ,-2008.-480 с.: ил.

40. Сергеев Ю.В. Местная и комбинированная терапия ониомикозов: пособие для врачей - М.: Национальная академия микологии.- 2003. - 32с.

41. Сергеев А.Ю. Руководство по лабораторной диагностике ониомикозов.- М: Гэотар медицина.- 2000 .-154с.

42. Сергеев В.Ю. Соответствие результатов ПЦР - теста и регламентированных методов диагностики при ониомикозе/ Современная микология в России. Том 2. Материалы 2-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии.- 2008.- с.450-451.

43. Потекаев Н.Н., Кочергин Н.Г., Смирнова и др. Наш первый опыт применения адалимумаба при псориазе //Российский журнал кожных и венерических болезней.-2012.-№5.-37-41с.

44. Сергеев В.Ю., Мокина Е.В., Сергеев А.Ю., Савченко Н.В., Кудрявцева Е.В. Новые способы оценки терапевтической эффективности при ониомикозе// Дерматология в России: Тез. II Конгресс акушеров-гинекологов, дерматовенерологов и урологов 10-11 апреля 2009г. - Новосибирск, 2009.- с.55-56.

45. Уразлин Н. У. Системное лечение ониомикозов/ Н. У. Уразлин, Г. А. Зацепилова //Здравоохранение Башкортостана. Спец. вып.: науч.-практ. журн. - Уфа: Ред. журн. "Здравоохранение Башкортостана", 2005. - №8.-73-74с.

46. Хамаганова И.В., Карамова А.Э., Кальменсон В.В. Резистентность к противогрибковым препаратам: решение проблемы. Учебно-методическое пособие. -2006.- 20 с.

47. Цыкин А.А. Онихомикозы: Современное состояние проблемы / Дерматология в России. - М: МедиаМедика.-2013. - №1.- С.9-12.
48. Ajello, L. Present day concepts of the dermatophytes // Mycopathol. Mycol. Appl.- 1962.- Vol.17.- P. 315-324.
49. Apodaca G, McKerrow, J.H. Purification and characterization of a 27,000-Mr extracellular proteinase from *Trichophyton rubrum* // Infect Immun.- 1989.- Vol.57.- P. 3072-3080.
50. Akhmetova V.R., Khabibullina G.R., Galimzyanova N.F. et al. Multicomponent Reactions in Water of NH_4Cl , CH_2O and SH-acids as Effective Synthesis of Biologically Active Heterocycles // Russian Journal of Applied Chemistry.-2014, Vol.87, Issue 3, P.294-298.
51. Ansari F., Lal. J. Chem. S. Synthesis and biological activity of some heterocyclic compounds containing benzimidazole and beta-lactam moiety, Vol.121.-2009.-P.1017–1025.
52. Aljabre S.M., Richardson M.D., Scott E.M. et al. Germination of *Trichophyton mentagrophytes* on human stratum corneum in vitro // J Med Vet Mycol.- 1992.- Vol.30.- P.145-152.
53. Brasch J., Martins B., Christophers E. Enzyme release by *Trichophyton rubrum* depends on nutritional conditions // Mycoses.-1991.- Vol.34.- P. 365-368.
54. Brasch J., Zaldua M. Enzyme patterns of dermatophytes // Mycoses.- 1994.-Vol.37.- P.11-16.
55. Brasch J., Folster-Holst R., Christophers E. Tinea durch *Trichophyton equinum* // Hautarzt.- 1998.- Vol.49.- P.397-402.
56. Becher R., Hettwer U., Karlovsky P., et al. Adaptation of *Fusarium graminearum* to tebuconazole yielded descendants diverging for levels of fitness, fungicide resistance, virulence, and mycotoxin production// Phytopathology.-2010.- Vol.100(5). - P.444 - 453.

57. Balkis M.M., Leidich S.D., Mukherjee P.K. et al. Mechanisms of fungal resistance: an overview // *Drugs*.- 2002.-Vol.62(7).-P.1025-1040.
58. Cross E.W., Park S., Perlin D.S. Cross-resistance of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to over the counter azoles used in the treatment of vaginitis // *Microb. Drug Resist.*— 2000.- Vol.6.- P. 155-161.
59. Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W. *The Fungi/ Academic Press*.- 2001.- Vol. 2.-P.588.
60. Carvalho V., Vicente V., Werner B. et al. Onychomycosis by *Fusarium oxysporum* probably acquired in utero// *Medical Mycology Case Reports*.- 2014.-Vol.6.- P.58–61.
61. Debono M., Gordee R. S. Antibiotics that inhibit fungal cell wall development// *Annual review of microbiology*. — 1994. — Vol. 48. — P. 471–497.
62. Desai N.C., Dodiya A.M. Synthesis, characterization and antimicrobial screening of quinoline based quinazolinone-4-thiazolidinone heterocycles// *Arabian Journal of Chemistry*.-2011.- Vol.7.- P.1007-1010.
63. Finch J.J., Warshaw E.M. Toenail onychomycosis: current and future treatment options// *Dermatol Ther.*-2007.-Vol.20.- P.31–46.
64. Gupta A.K., Plott T. Ciclopirox: a broad-spectrum antifungal with antibacterial and anti-inflammatory properties//*Dermatol.*-2004.-Vol.43.- P.3–8.
65. Gill D., Marks R. A review of the epidemiology of tinea unguinum in the community//*Austral J Dermatol.*-1999.-Vol.40 (1).- P.6–13.
66. Havlickova B., Czaika V.A., Freidrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide // *Mycoses*.- 2008.- Vol.51.- P. 2-15.
67. Jong H.K, Kathleen L. C., Noreen M. et al. Antifungal activity of redox-active benzaldehydes that target cellular antioxidation//*Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*.-2011.-Vol.10.- P.23.

68. Jadeja D., Jaiswal C., Panchasra A. et al. Griseofulvin and Terbinafine Induced Toxic Epidermal Necrolysis in An Adult Female Patient// Curr Drug Saf.-2015.-Vol.11(2).-P.192-194.
69. Michelline Viviane Marques das Nevesa, Tânia Maria Sarmiento da Silvab, Edeltrudes de Oliveira Limac et al. Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against Candida spp //Brazilian journal of microbiology.-2016.-Vol.47.-P.159–166.
70. Moreno G., Arenas R. Other fungi causing onychomycosis//Clin Dermatol.-2010.-Vol.28(2).- P.160-1633.
71. Moossavi M.,Bagheri B.,Scher R.K. Systemic antifungal therapy //Dermatol. Clin. – 2001. – Vol. 19. – P. 35–52.
72. Mahmoud A. Ghannou M., Louis B. R. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance// Clinical Microbiology Reviews.- 1999.-Vol.12.-P.501-517.
73. Odds F.C., Brown A.J., Gow N.A. Antifungal agents: mechanisms of action. A review // Trends Microbiol.- 2003.- Vol. 11.- P. 272-279.
74. Ghannoum M., Parks L. W., Casey W.M. Fungal sterols. Lipids of pathogenic fungi// CRC Press, Inc., Boca Raton.-1996.Vol.7- P.63-82.
75. Polak A.M. Preclinical data and mode of action of amorolfine//Clin Exp Dermatol.-1992.-Vol.17.- P.8–12.
76. Petersen A.B., Konotop G., Hanafiah N.H. et al. Strategies for improving the solubility and metabolic stability of griseofulvin analogues // Eur J Med Chem.-2016.-Vol.116.-P.210-215.
77. Protsenko T.V., Kravets E.V., Demchenko S.I. Clinical value of mycotic associations at microsporia of a hair part of heat at children / / Abstracts the 11-th Congress of the European Academy of Dermatology and Venerology. - Praga, 2002. - P.235.

78. Pfaller M.A., Messer S.A., Boyken L et al. Cross-resistance between Fluconazole and ravuconazole and the use of fluconazole as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to avuconazole among 12796 clinical isolates of *Candida* spp.// Clin. Microbiol.- 2004.- Vol.42.- P. 3137-3141.
79. Rippon J.W. Host specificity in dermatophytoses // Proceedings of the EightCongress of the International Society for Human and Animal Mycology.- 1982.Vol.56- P.28-33.
80. Siesenop U, Böhm K.H. Comparative studies on keratinase production of *Trichophyton mentagrophytes* strains of animal origin // Mycoses.- 1995.- Vol.38. P. 205-209.
81. Simpanya M.F, Baxter M. Multiple proteinases from two *Microsporum* species // J Med Vet Mycol.-1996.-Vol.34.- P. 31-36.
82. Sojakova M., Liptajova D., Borovsky M. et al. Fluconazole and itraconazole suscptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia // Micopathologia.- 2004.-Vol.157.-P.163-169.
83. Snelders E., Melchers W.J., Verweij P.E. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a new challenge in the management of invasive aspergillosis? //Future Microbiology.-2011.-Vol. 6. -P. 335-347
84. Subissi A., Monti D., Togni G. Ciclopirox recent nonclinical and clinical data relevant to its use as a topical antimycotic agent// Drugs.-2010.- Vol.70.- P.2133–52.
85. Sugar A. M. 1986. The polyene macrolide antifungal drugs// Antimicrobial agents, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands,1986.-Vol. 1.- p. 229–244. P. K. Peterson and J. Verhoef (ed.),
86. Tullio V., Banche G., Allizond V. et al. Non-dermatophyte moulds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus*// Fungal biology.- 2010.-Vol.114.- P.345–349.

87. Taskeen U.N., Wani A.H., Bhat M.Y. et al. In vitro inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelia growth and spore germination of *Fusarium oxysporum* // Journal of Biopesticides.-2011.-Vol.4(1).- P.53-56.

88. Tabara, Szewczyk, Bienias et al. Amorolfine vs. ciclopirox - lacquers for the treatment of onychomycosis// Postepy Dermatol Alergol.-2015.-Vol.32(1).- P.40–45.

89. Verweij P.E., Howard S.J, Melchers W.J et al. Azole-resistance in *Aspergillus*: proposed nomenclature and breakpoints//Drug Resist Updat.-2009.-Vol.12(6).- P.141-147.

90. Vicentini C.B., Romagnoli C., Manfredini S. et al. Pyrazolo[3,4-c]isothiazole and isothiazolo[4,3-d]isoxazole derivatives as antifungal agents// Pharm Biol.-2011.Vol.-49(5).- P.545 - 552.

91. Verma S, Heffernan M.P. Superficial fungal infection: Dermatophytosis, onychomycosis, tinea nigra, piedra// Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.-2008.-Vol.2.-P.1807–1821.

92. William J.S., Yoshiyuki T., Hisato S. et al. Antifungal Activities of Efinaconazole and Currently Available Antifungal Agents against a Variety of Pathogenic Fungi Associated with Onychomycosis // Antimicrobial Agents and Chemotherapy.-2013.-Vol.57(4).- P. 1610 –1616.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНЗДРАВА РФ

Сертификат

участника заочной научно-практической
Всероссийской межвузовской конференции
студентов и молодых ученых

«Современная микробиология: взгляд молодого ученого»
выдан

Л.И. Истамуратовой, Н.С. Ахмадиеву

17.12.2015 г.

г. Оренбург

Заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии ОРГМУ,
профессор Михайлова Е.А.



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

СТУДЕНЧЕСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ

Сборник материалов

заочной научно-практической

Всероссийской межвузовской

конференции

студентов и молодых ученых

Современная микробиология:

ВЗГЛЯД МОЛОДОГО УЧЕНОГО

ОРЕНБУРГ, 2015

УДК 579(063)

ББК 28.4

С 56

Редакционная коллегия: Е.А.Михайлова, Л.М.Азнабаева, Д.Г.Укубаева

С 56 Материалы заочной научно-практической Всероссийской межвузовской конференции студентов и молодых ученых «Современная микробиология: взгляд молодого ученого» - Оренбург, ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава РФ, 2015. – 55 с.

УДК 579(063)

ББК 28.4

© ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург

АНАЛИЗ ФУНГИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Л.И. Исламуратова, Н.С. Ахмадиев

Башкирский государственный медицинский университет, г.Уфа

ФГБУН Институт нефтехимии и катализа РАН

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

Заведующий кафедрой – проф., д.м.н. А.Р. Мавзютов

ФГБУН Уфимский Институт биологии РАН

Научный руководитель – доц., к.б.н. Н.Ф. Галимзянова

Онихомикоз – грибковая инфекция ногтевой пластинки, вызываемая различными видами патогенных грибов. Основные виды дерматофитов, выделяемые при онихомикозе: *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. interdigitale*, а также *Epidermophyton floccosum*, *T. violaceum* и *T. tonsurans*. В последние годы отмечается изменение таксономического состава возбудителей онихомикоза, в котором начали доминировать виды микромицетов, считавшиеся ранее факультативными патогенами. Основной прогресс в создании антимикотических средств связан с поиском новых соединений перспективных для применения в качестве лекарственных препаратов в медицине. Особенность разработки средств борьбы с грибами заключается в постепенном развитии у них устойчивости к применяемым веществам, поэтому существует постоянная необходимость в поиске новых или модификации существующих антимикотических соединений.

Целью настоящей работы было изучение фунгицидной активности двух новых соединений (ANS-11-3-[(Фенилсульфанил)метил]пентан-2,4-дион и ANS-12-3 [(Трет-бутилсульфанил)метил]пентан-2,4-дион). Тест – культурами служили: *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*. Эти микромицеты являются возбудителями болезней сельскохозяйственных растений, контаминируют многие конструкционные материалы и способны вызывать микозы у человека и животных. В качестве представителя рода *Trichophyton* был использован вид – *Trichophyton terrestris* Durie D. Frey [Саттон, 2001]. Анализ фунгицидной активности проводили, используя метод диффузии в картофельно-глюкозный агар. Испытуемые вещества были использованы в концентрациях 0,1, 0,2 и 0,5%.

Оценка действия новых соединений на развитие микромицетов показала, что фунгицидную активность проявило гетероциклическое соединение ANS-11, в концентрации 0,5% подавлявшее развитие всех тест-объектов.

Другое соединение – ANS-12 не проявило способности к подавлению роста изученных тест-объектов, однако в концентрациях 0,2% и 0,5% это вещество угнетало развитие *T. terrestris* в зоне своего действия.

Анализ результатов исследований показывает, что наиболее перспективным для разработки на его основе действующего вещества – антимикотика является гетероциклическое соединение 3-[(Фенилсульфанил)метил]пентан-2,4-дион.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНЫХ И ФУНГИЦИДНЫХ СВОЙСТВ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПЛЕНОК С НАНОСЛОЯМИ СЕРЕБРА

А.Д. Клемина

Ивановская государственная медицинская академия, г. Иваново

Кафедра микробиологии и вирусологии

Заведующий кафедрой – проф., д.м.н. Е.В. Гарасько

Научный руководитель – проф., д.м.н. Е.В. Гарасько

Известно, что продукты питания часто подвержены воздействию микроорганизмов, которые могут изменять натуральные свойства сырья и продуктов, приводя к ухудшению их качества. Наиболее перспективным направлением повышения сроков хранения продовольственных товаров считают использование специальных упаковочных материалов, способных защитить продукт от негативных факторов внешней среды, а также снизить скорость микробиологической порчи.

Данная работа является продолжением многолетних исследований биоцидных свойств различных материалов (таких как лен, хлопок, фуллерены, полипропиленовые нити и тд) модифицированных наночастицами меди (совместно с Институтом Химии неводных растворов РАН, г. Иваново). Новизна данной работы состоит в исследовании композиционных материалов, полученных при помощи наночастиц другого металла – серебра.

Объектом исследования стала модифицированная пищевая пленка с нанослоями серебра. Наночастицы серебра были получены на базе Ивановского Государственного Химико-Технологического Университета (ИГХТУ). Модифицированные пищевые пленки получали на установке магнитронного напыления УМН-180 также на базе ИГХТУ. Предположительно, препараты на основе серебра, как и сам металл, обладают бактерицидным, противовирусным, ярко выраженным противогрибковым и антисептическим действием и служат эффективным обеззараживающим средством по отношению к патогенным микроорганизмам, вызывающим острые инфекции.

МИНИСТРЕСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТРЕСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
ГБОУ ВПО БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФГБОУ ВПО БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФГБУ НИИ ГРИППА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ ИНФЕКТОЛОГИИ

**Всероссийская научно-практическая конференция
с международным участием**

**12-14 апреля 2016 года
г. Уфа**

Том 2

Уфа
РИО ИЦИПТ
2016

УДК 616.9
ББК 55.1
Ф94

**ПРОВЕДЕНИЕ КОНФЕРЕНЦИИ И ИЗДАНИЕ МАТЕРИАЛОВ
ОСУЩЕСТВЛЕНО ПРИ ФИНАНСОВОЙ ПОДДЕРЖКЕ ФГБУ
«РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ»,
проект №16-04-20105**

Редакционная коллегия:

доктор медицинских наук, проф. Г.М. Хасанова (отв. редактор)
доктор медицинских наук, проф. Д.А. Валишин (отв. за выпуск)
кандидат медицинских наук, доцент А.Н. Бурганова (отв. за выпуск)
кандидат медицинских наук, доцент Л.Р. Шайхуллина (отв. за выпуск)
кандидат медицинских наук, доцент Г.Х. Ахмадуллина (отв. за выпуск)
доктор биологических наук, проф. З.А. Янгуразова (отв. за выпуск)

Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии:

Ф94 сборник научных статей участников Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Уфа, 12-14 апреля 2016 г.). В 2-х томах / Отв. ред. Г.М. Хасанова. – Уфа: РИО ИЦИПТ, 2016. Том 2. - 140 с.

ISBN 978-5-906735-51-5 (т. 2)
ISBN 978-5-906735-49-2

В сборнике представлены научные статьи студентов и молодых ученых, прошедшие второй тур конкурса научно-исследовательских работ, проводимого в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты современной инфектологии».

УДК 616.9
ББК 55.1

ISBN 978-5-906735-51-5 (т. 2)
ISBN 978-5-906735-49-2

© БГМУ, 2016
© БашГУ, 2016
© НИИ гриппа, 2016
© ИЦИПТ, 2016

3. Кутдусова А.М., Мурзабаева Р.Т. Особенности иммунного статуса у женщин различных возрастных групп при геморрагической лихорадке с почечным синдромом // Информационный архив – 2011. – Т.5, №4. – С. 29-33.

4. Руководство по инфекционным болезням / под ред. Ю.В. Лобзина, В.В. Васильева, К.В. Жданова и др. - 3-е издание - СПб. :Фолиант - 2013, - С. 366-370.

5. Хасанова Г.М. Особенности заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в крупном промышленном городе // Вестник Башкирского университета – 2007. – Т.12., №1. – С. 57-59.

6. Хасанова Г.М. Особенности заболеваемости, течения, осложнений и исходов геморрагической лихорадки с почечным синдромом в крупном промышленном городе // Вестник Башкирского университета – 2007. – Т. 12., №4. – С. 45-47.

7. Хасанова Г.М., Валишин Д.А., Хасанова А.Н. Клинико-эпидемиологические проявления геморрагической лихорадки с почечным синдромом в период подъема заболеваемости в республике Башкортостан // Международный академический вестник – 2015. – №1(7). – С. 148-150.

© Ефимова Э.Ю., 2016

УДК 579.61

Исламуратова Л.И. студент 4 курса
специальность «Микробиология»

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет
г. Уфа, Россия,

Научные руководители – **Галимзянова Н.Ф.** к.б.н.
Уфимский институт биологии Российской академии наук
г. Уфа, Россия,

Мавзютов А.Р. проф., д.м.н.
ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет
г. Уфа, Россия

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

В настоящее время согласно официальным данным онихомикозами страдают не менее 10–20% людей от общего количества населения Земли [4, 5].

Основными возбудителями онихомикоза являются дерматофиты *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes* [3]. Однако в последние десятилетия наметилась тенденция к расширению видового состава возбудителей онихомикозов [6]. Среди них отмечено появление таких видов как *Scopulariopsis brevicaulis*, *Aspergillus versicolor*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum* и *Scytalidium spp.* [7], *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* и *Microascus cinereus* [11], что свидетельствует о необходимости расширения тест-систем для оценки фунгицидного действия новых соединений.

Известно, что патогенные микроскопические грибы могут приобретать устойчивость к фунгицидным препаратам, что делает актуальным постоянный поиск новых антимикотических веществ [8, 9, 10, 12].

Цель. Исследование антимикотического действия новых соединений из группы γ -(2,4-пентадион-3-ил) сульфидов (ANS-11-3-[(Фенилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион и ANS-12-3[(Трет-бутилсульфанил) метил] пентан-2,4-дион) в отношении патогенных и условно-патогенных грибов.

Материалы и методы. Культивирование микромицетов осуществляли на твердых питательных средах (КГА, среда Сабуро). Для оценки влияния новых соединений на развитие микромицетов использовали метод диффузии в агар, использовали две концентрации веществ - 0,1 и 0,5% [1]. Влияние испытуемых соединений на развитие грибов оценивали по размеру зоны подавления роста тест-объекта. Контролем служило развитие микроскопических грибов на питательной среде. Наблюдение за развитием микромицетов проводили с помощью светового микроскопа Leica DM-100. В качестве тест-объектов были выбраны микромицеты - *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, *Rhizoctonia solani* J.G.Kiihn, возбудители болезней сельскохозяйственных растений, контаминирующие многие конструкционные материалы и способные вызывать микозы у человека и животных [2], а также дерматомицеты *Trichophyton rubrum* Castellani(Sabouraud), *T. mentagrophytes* Ch. Robin, *Microsporum canis* Bodin. Кроме того нами из клинического материала пациента, больного онихомикозом, был выделен и идентифицирован по культурально-морфологическим признакам штамм *Chaetomium globosum* Kunze, который мы также включили в тест систему.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным программам MS Excel. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента (*t*-тест).

Результаты и их обсуждение. В первой серии экспериментов анализировали влияние испытуемых соединений на условно-патогенные микроскопические грибы. Оценка действия новых соединений на развитие микромицетов показала, что среди них наибольшую фунгицидную

активность проявило соединение ANS-11, в концентрации 0,5% подавлявшее развитие всех тест-объектов (табл. 1).

Таблица 1

Оценка влияния ANS-11 и ANS-12 на развитие тест-культур грибов (10 сутки)

Тест-культуры	ANS-11		ANS-12		Контроль
	Концентрация действующего вещества, %				
	0,1	0,5	0,1	0,5	
<i>F. oxysporum</i>	28,5±25,9	Роста нет	Рост	Рост	Спорообразование
<i>B.sorokiniana</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Рост	Развитый воздушный мицелий
<i>R.solani</i>	Роста нет	Роста нет	Образование хламидоспор	Образование хламидоспор	Образование хламидоспор

В другой серии экспериментов анализировали влияние испытуемых веществ на развитие дерматомицетов. Результаты анализа показали, что соединение ANS-11 полностью подавляло рост дерматофитов во всех испытанных концентрациях, а соединение ANS-12 в концентрации 0,5% подавляло развитие *T.rubrum* и *M.canis* (табл. 2).

Таблица 2

Оценка влияния ANS-11 и ANS-12 на развитие дерматофитов (10 сутки)

Тест-культуры	ANS-11		ANS-12		Контроль
	Концентрация действующего вещества, %				
	0,1	0,5	0,1	0,5	
<i>T.rubrum</i>	Роста нет	Роста нет	Рост	Роста нет	Спорообразование
<i>T.mentagrophytes</i>	Роста нет	Роста нет	Рост	Рост	Спорообразование
<i>M.canis</i>	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Спорообразование
<i>C.globosum</i>	Роста нет	Роста нет	Зачатки плодовых тел	Зачатки плодовых тел	Развитые плодовые тела

При оценке действия новых соединений на развитие *C. globosum* было показано, что вещество ANS-11 проявляло фунгицидную активность

в обеих концентрациях, а соединение ANS-12 не подавляло рост гриба, однако в концентрации 0,5% задерживало образование его плодовых тел в зоне своего действия.

Заключение. Проведенные исследования показали, что новое 1,3-дикарбонильное соединение с тиофенольным фрагментом(ANS-11) подавляет развитие широкого спектра микроскопических грибов и может служить перспективной основой для разработки антимикотических препаратов для профилактики и лечения онихомикозов.

Список литературы

1. Практикум по микробиологии. Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.Н. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. - М.: Академия - 2005. - 608 с.
2. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов - М.: Мир, - 2001. - 486 с.
3. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей - М.: БИНОМ, - 2008. - 480 с.
4. Сергеев А.Ю. Системная терапия онихомикозов. Пособие для врачей. - М., - 2000.
5. Сергеев Ю.В., Сергеев А.Ю. Онихомикозы. Грибковые инфекции ногтей. - М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, - 1998.
6. Carvalho V.O., Vicente V.A., Werner B., Gomes R.R., Fornari G., Herkert P.F., Rodrigues C.O., Abagge K.T., Robla R., Camiña R.H. Onychomycosis by *Fusarium oxysporum* probably acquired in utero // *Medical Mycology Case Reports*. - 2014. - №6. - P. 58-61.
7. Moreno G., Arenas R. Other fungi causing onychomycosis // *Clinical Dermatology*, - 2010. - V.28(2). - P. 160-163.
8. Pfaller M.A., Messer S.A., Boyken L. Cross-resistance between Fluconazole and ravuconazole and the use of fluconazole as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to avuconazole among 12796 clinical isolates of *Candida* spp. // *Clinical Microbiology*, - 2004. - V.42, №7. - P. 3137-3141.
9. Sojakova M., Liptajova D., Borovsky M., Subik J. Fluconazole and itraconazole susceptibility of vaginal yeast isolates from Slovakia // *Micopathologia*, - 2004. - V.157, №2. - P. 163-169.
10. Snelders E., Melchers W.J.G., Verweij P.E. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a new challenge in the management of invasive aspergillosis? // *Future Microbiology*, - 2011. - V.6. №3. - P. 335-347.
11. Tullio V., Banche G., Allizond V., Roana J., Mandras N., Scalas D., Panzone M., Cervetti O., Valle S., Carlone N., Cuffini A.M. Non-dermatophyte moulds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus* // *Fungal biology*, - 2010. - V.114. - P. 345-349.

Справка об антиплагиате студентки МБ 401 Исламуратовой Л.И.

Информация о

документе:

Имя исходного файла:	Диплом_Исламуратова Л.Л.docx
Имя компании:	Башкирский государственный медицинский университет
Тип документа:	Прочее
Имя документа:	дипломная работа Исламуратова
Текстовые статистики:	
Индекс читаемости:	сложный
Неизвестные слова:	в пределах нормы
Макс. длина слова:	выше нормы!
Большие слова:	выше нормы!

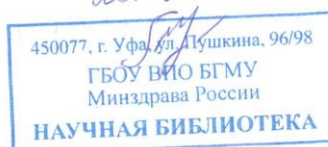
Оригинальные блоки: 74.78%

Заимствованные блоки: 25.22%

Заимствование из «белых» источников: 0 %

Итоговая оценка оригинальности: 74.78%

23.06.2016г.



**Отзыв научного руководителя
о прохождении дипломной практики**

студентки 4 курса обучения

медико-профилактического факультета с отделением микробиологии

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России

Исламуратовой Ляйсан Ильдаровны по теме:

«Оценка фунгицидной активности новых препаратов для лечения
онихомикозов».

Исламуратова Л.И., студентка 4 курса, проходила практику в ФБУН Институт биологии Уфимского научного центра Российской академии наук. Работа над дипломом началась в 2015 году. За время выполнения дипломной работы Ляйсан Ильдаровна показала себя высоко мотивированным, инициативным, знающим и исполнительным человеком.

В ходе выполнения дипломной работы Исламуратова Л.И. освоила ряд лабораторных методов – выделение микромицетов из клинического материала, культивирование микроскопических грибов, методы определения фунгицидной активности химических соединений.

В процессе работы над дипломной работой Исламуратова Л.И. изучила значительный объем литературных источников, показала умение обобщать данные литературы и формулировать выводы.

В ходе выполнения экспериментальной работы были получены новые данные о фунгицидной активности ряда химических соединений, синтезированных в Институте нефтехимии и катализа РАН и кафедре на фармацевтической химии ГБОУ ВПО БГМУ. Полученные результаты могут служить основой для разработки новых лекарственных средств для лечения дерматомикозов.

Дипломная работа Исламуратовой Ляйсан Ильдаровны по теме:
«Оценка фунгицидной активности новых препаратов для лечения
онихомикозов» может быть представлена к защите.

Научный руководитель:

Зав лабораторией прикладной

микробиологии УИБ УНЦ РАН,

доц., к.б.н

Н.Ф.Галимзянова



Подпись: *Галимзянова*
Заведующий: *С. Р. М.*
Инспектор по кадрам: *М. М. М.*

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студентки 4 курса обучения

медико-профилактического факультета с отделением микробиологии

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России

Исламуратовой Ляйсан Ильдаровны

На рецензию представлена дипломная работа на тему «Оценка фунгицидной активности новых препаратов для лечения онихомикозов».

Работа изложена на 76 страницах машинописного текста, включает 5 таблиц и 12 рисунков. Дипломная работа построена по традиционной схеме, включает такие разделы, как введение, литературный обзор, описание объектов и методов исследований, представление собственных данных и их обсуждение, заключение, выводы, список цитируемой литературы, состоящий из 95 источников (в том числе 46 иностранных) и приложения.

Актуальность работы обусловлена необходимостью поиска новых действующих веществ для создания на их основе лекарств для профилактики и лечения дерматомикозов.

Целью рецензируемой работы являлось изучение *in vitro* новых химических соединений, потенциально способных проявить фунгицидные свойства. Цель и задачи исследования сформулированы четко. Для изучения использованы новые соединения. В тест систему был включен широкий набор микроскопических грибов, в том числе дерматомицетов и клинических изолятов. В результате проведенных исследований показана перспективность ряда новых соединений для последующего их изучения в целях создания новых лекарственных средств. Выводы полностью отвечают поставленным задачам работы.

Дипломная работа Исламуратовой Л.И. удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к дипломным работам, может быть допущена к защите и заслуживает отличной оценки.

д.м.н, профессор,
зав. кафедрой фундаментальной и
прикладной микробиологии БГМУ



Мавзютов А.Р



РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студентки 4 курса обучения
медико-профилактического факультета с отделением микробиологии

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России

Исламуратовой Ляйсан Ильдаровны.

На рецензию представлена дипломная работа на тему «Оценка фунгицидной активности новых препаратов для лечения онихомикозов».

Поверхностные дерматомикозы являются распространенным инфекционным заболеванием. Трудность их лечения заключается в постепенном развитии у возбудителей резистентности к применяемым лекарственным средствам. Необходимость поиска новых действующих веществ-антимикотиков обуславливает актуальность рецензируемой работы. Целью исследования была оценка ряда новых соединений по их воздействию на микроскопические грибы, среди которых были как фитопатогенные, так и дерматомицеты. Ценной особенностью рецензируемой работы, на мой взгляд, является включение в состав тест-системы клинического изолята.

Работа изложена на 76 страницах машинописного текста, включает 5 таблиц и 12 рисунков. Построенная по традиционной схеме, работа включает следующие разделы - введение, литературный обзор, описание объектов и методов исследований, собственные данные и их обсуждение, заключение, выводы, список цитируемой литературы, состоящий из 95 источников (в том числе 46 иностранных) и приложения.

В обзоре литературы подробно рассмотрены важнейшие аспекты этиологии онихомикозов, современные средства их лечения, механизмы действия антимикотических соединений различных химических групп.

Собственные исследования, проведенные Исламуратовой Л.И., позволили выявить перспективные для дальнейшей работы соединения, которые в опытах *in vitro*, проявили фунгицидную активность к широкому

набору микроскопических грибов, в том числе и дерматомицетам (АНС-11, 12). Полученные результаты могут быть использованы при дальнейшей разработке лекарственных средств для лечения дерматомикозов, вызываемых как типичными их возбудителями, так и новыми видами. Выводы дипломной работы полностью соответствуют поставленным задачам.

Дипломная работа Исламуратовой Л.И. удовлетворяет всем требованиям, предъявляемым к дипломным работам, может быть допущена к защите и заслуживает отличной оценки.

Старший научный сотрудник лаборатории

прикладной микробиологии

ФГБУН Уфимского Института биологии Российской

академии наук, к.б.н., доцент



Бойко Т.Ф.

