

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2024.5.31>

Способность сыворотки крови пациентов с ревматоидным артритом и гнойно-воспалительными заболеваниями разрушать матрикс биопленки и подавлять метаболическую активность бактерий в нативной биопленке

Т.Н. Лептеева, С.А. Сенькович, М.В. Масько, Е.Е. Булынская, А.Н. Угалев

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2024. – Том 23, №5. – С. 31-41.

The ability of blood serum to destroy the biofilm matrix and suppress bacteria metabolic activity in the native biofilm in patients with rheumatoid arthritis and purulent inflammatory diseases

T.N. Lepteeva, S.A. Senkovich, M.V. Masko, J.J. Bulinska, A.N. Ugalev

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2024;23(5):31-41.

Резюме.

Риск развития инфекционных процессов при ревматоидном артрите значительно повышен по сравнению со здоровыми людьми. Важную роль в развитии инфекций играют бактерии, существующие в составе биопленок. Исследование способности макроорганизма влиять на бактериальную биопленку может способствовать поиску новых прогностических биомаркеров инфекционного процесса при ревматоидном артрите.

Цель исследования – провести сравнительную оценку способности сывороток крови подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс биопленок у пациентов с ревматоидным артритом, гнойно-воспалительными заболеваниями и у здоровых лиц.

Материал и методы. Исследованы сыворотки крови 28 пациентов с ревматоидным артритом, 20 пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями и 48 здоровых лиц. Для оценки способности сыворотки крови подавлять метаболизм бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс использовались разработанные ранее методы.

Результаты. У пациентов с ревматоидным артритом и гнойно-воспалительными заболеваниями способность сыворотки подавлять метаболическую активность биопленок и разрушать матрикс биопленки была значительно ниже, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$). Тесты, основанные на определении способности сыворотки разрушать матрикс биопленки, позволяют разграничить пациентов с ревматоидным артритом и здоровых лиц (чувствительность – 92,86%, специфичность – 82,14%) а также пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями и здоровых лиц (чувствительность – 80,00%, специфичность – 80,00%).

Заключение. Установлена сниженная способность сыворотки крови пациентов с ревматоидным артритом и гнойно-воспалительными заболеваниями подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс биопленки. Требуется дальнейшие исследования в данном направлении для определения патогенетических механизмов и диагностического применения полученных данных.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, гнойно-воспалительные заболевания, биопленка, метаболическая активность бактерий, экзополимерный матрикс биопленки.

Abstract.

The risk of developing infectious processes in rheumatoid arthritis is significantly increased compared to healthy people. Bacteria that exist in biofilms play a crucial role in the development of infections. The study of the macroorganism ability

to influence the bacterial biofilm may contribute to the search for new prognostic biomarkers of the infectious process in rheumatoid arthritis.

Objectives. To perform the comparative assessment of the blood sera ability to suppress the metabolic activity of native biofilm bacteria and destroy the biofilm exopolymer matrix in patients with rheumatoid arthritis, purulent inflammatory diseases and in healthy individuals.

Material and methods. The blood sera of 28 patients with rheumatoid arthritis, 20 patients with purulent inflammatory diseases and 48 healthy individuals were examined. Previously developed methods were used to evaluate the ability of blood serum to suppress the metabolism of the native biofilm bacteria and destroy the exopolymer biofilm matrix.

Results. In patients with rheumatoid arthritis and purulent inflammatory diseases, the ability of serum to suppress the metabolic activity of biofilms and destroy the biofilm matrix was significantly lower than in healthy individuals ($p < 0.05$). Tests determining the ability of serum to destroy the biofilm matrix make it possible to differentiate between patients with rheumatoid arthritis and healthy individuals (sensitivity – 92.86%, specificity – 82.14%) as well as between patients with purulent inflammatory diseases and healthy individuals (sensitivity – 80.00%, specificity – 80.00%).

Conclusions. A reduced ability of the blood serum to suppress the metabolic activity of the native biofilm bacteria and destroy the biofilm exopolymer matrix in patients with rheumatoid arthritis and purulent inflammatory diseases has been established. Further research in this area is required to determine the pathogenetic mechanisms and the diagnostic application of the obtained data.

Keywords: *rheumatoid arthritis, purulent inflammatory diseases, biofilm, metabolic activity of bacteria, exopolymer matrix of biofilm.*

Введение

Ревматоидный артрит (РА) – хроническое аутоиммунное заболевание, которое характеризуется воспалением и гиперплазией синовиальной оболочки, приводящими к необратимому повреждению синовиального хряща и субхондральной кости, потере функции, хронической боли и прогрессирующей нетрудоспособности вследствие скованности и деформация суставов [1]. РА поражает до 1% населения во всем мире, в три раза чаще встречается у женщин и связан со значительными сопутствующими заболеваниями (сердечно-сосудистые заболевания, нарушения скелета, такие как: потеря периартикулярной костной массы, эрозия околоуставных костей, анкилозы суставов и переломы), социально-экономическим бременем и смертностью [2]. РА характеризуется значительной гетерогенностью клинических проявлений [3], в основе которых лежат соответствующие молекулярно-иммунологические механизмы [4]. Точная этиология РА все еще плохо изучена, хотя предполагается, что развитие РА зависит от сложных связей между факторами окружающей среды (например, длительным курением), генетическим фоном, гормональными и инфекционными факторами риска [5, 6], приводящими к образованию аутоантител и возникновению РА.

Относительно недавно была высказана гипотеза о роли микробиома в патогенезе воспали-

тельного артрита в качестве возможного модификатора (фактора окружающей среды) в развитии заболевания [7]. Известно, что слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, ткани пародонта являются объектами иммунного надзора. Нарушение иммунной толерантности может способствовать развитию артрита [8]. Это подтверждается тем, что аутоантитела, такие как ревматоидный фактор и антитела против цитруллинированных пептидов могут быть обнаружены за годы до появления симптомов артрита [9]. Гипотетически, аутоиммунные реакции, инициируемые на поверхности слизистой оболочки, колонизированной микробами, могут распространяться вне слизистой оболочки, в частности на синовиальную мембрану.

В последнее время было продемонстрировано, что у пациентов с РА наблюдается более высокая бактериальная нагрузка, увеличенное количество патогенных видов и более разнообразная микробиота полости рта, связанная с периодонтитом, по сравнению со здоровыми и с контрольной группой (с РА и без периодонтита), что сопровождалось ухудшением состояния пародонта (клиническая потеря прикрепления) у этих пациентов [10]. Можно полагать, что взаимодействие микробиоты, механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, а также инфекционных процессов способствует потере иммунотолерантности и развитию аутоиммунного заболевания, например РА. В то же время следует отметить,

что не выработано целостного подхода к изучению взаимодействия хозяин-микроорганизм- аутоиммунитет, что не способствует продвижению в окончательном понимании аутоиммунного воспаления.

В то же время известно, что пациенты с РА имеют повышенную восприимчивость к серьезным инфекциям. При рассмотрении риска инфицирования при РА необходимо учитывать взаимодействие различных эндогенных и экзогенных факторов риска: сам по себе РА как хроническое заболевание с иммунологическими дисфункциями, сопутствующие заболевания, снижающие иммунитет, а также применение сильнодействующих иммуномодулирующих препаратов. Оценить вклад каждого из этих факторов риска в общий риск инфицирования у пациентов с РА представляет собой методологическую проблему.

Установлено, что высокая активность РА, оцениваемая по индексу Disease Activity Score 28 (DAS28), и высокие показатели функциональных нарушений, оцениваемые по опроснику Health Assessment Questionnaire (HAQ), являются предикторами инфекционных осложнений. Системные проявления РА, в частности интерстициальное заболевание легких, а также сопутствующие заболевания, такие как хроническая болезнь почек и бронхиальная астма, являются независимыми факторами серьезных инфекций [11,12].

Высокая активность РА, наличие системных проявлений заболевания и коморбидных состояний влекут за собой необходимость применения комбинации синтетических и биологических болезнь-модифицирующих противоревматических препаратов, использование глюкокортикоидов, что может усугублять риск развития инфекционных осложнений. Установлено, что применение глюкокортикоидов увеличивает риск инфекций в два-четыре раза в зависимости от дозы [13]. Риск развития инфекционного процесса остается повышенным при применении большинства биологических и синтетических болезнь-модифицирующих противоревматических препаратов [14]. По оценкам экспертов, риск развития инфекционных осложнений при использовании биологических лекарственных средств повышается в 2 раза [13].

Применение новых таргетных синтетических лекарственных средств, таких как тофацитиниб, также сопровождается значительным повышением риска развития серьезных инфекций при РА, особенно у пожилых пациентов [15].

Таким образом, аспекты инфекционного

процесса при РА представляют собой сложную проблему. С одной стороны, микробиота может участвовать в этиопатогенезе РА, с другой – использование иммуносупрессивных лекарственных средств повышает риск развития инфекционных осложнений. Поиск прогностических биомаркеров развития инфекционного процесса при РА является перспективным направлением для современной ревматологии.

К настоящему времени является общепринятым положение о том, что бактерии в естественных условиях существуют преимущественно в составе биопленок – сообществ микроорганизмов, адгезированных к поверхности и погруженных в экзополимерный матрикс. В составе биопленок бактерии демонстрируют высокую устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов. В большой степени устойчивость биопленок связана с наличием экзополимерного матрикса [16].

Образование биопленок резко повышает резистентность бактерий к воздействию факторов системы иммунитета макроорганизма. Биопленки являются источником многочисленных хронических и рецидивирующих инфекций, которые трудно или невозможно лечить [17]. Почти 80% рецидивирующих внутрибольничных инфекций ассоциированы с биопленками и сопровождаются высокой смертностью [18]. Помимо этого, в составе биопленок бактерии демонстрируют высокую резистентность к антибактериальным препаратам [19].

Многие условно-патогенные микроорганизмы используют образование биопленок для заселения слизистых оболочек хозяина; таким образом, они сопротивляются механическим воздействиям, возникающим при выделении слизи, кашле или чихании. При определенных условиях эти микроорганизмы могут попасть в кровоток, вызывая системные жизнеугрожающие инфекции. В кровотоке бактерии могут прикрепляться к эндотелиальным клеткам капилляров и образовывать микроколонии. Микроколонии - это ассоциации микроорганизмов, часто происходящих из одного клона, окруженные внеклеточным матриксом; они являются основой формирования биопленки. Микроколонии устойчивы к сдвигающим силам, создаваемым током крови [20] и способны противостоять иммунной защите и влиять на барьерную функцию эндотелия [21].

Значительное внимание уделяется сейчас исследованию механизмов влияния организма-

хозяина на образование микроколоний и биопленок, что в перспективе открывает новые возможности для улучшения результатов лечения многих патогенных инфекций. Установлено, что сыворотка крови человека подавляет образование биопленок некоторыми бактериями [22]. Сывороточные белки, такие как трансферрин, лактоферрин, альбумин и другие, играют важную роль в предотвращении образования биопленки [23-25]. Предполагается, что протеолитическая активность сывороточных протеаз в отношении бактериальных адгезинов, участвующих в образовании биопленок, может представлять собой защитный механизм для уничтожения патогенов [26]. Ранее было показано, что снижение способности сыворотки разрушать матрикс биопленки способствует развитию инфекционного процесса [27].

Можно предполагать, что снижение способности макроорганизма подавлять метаболическую активность биопленки и разрушать экзополимерный матрикс может иметь значение не только при инфекционных процессах, но и при РА. Представляется перспективным использование разработанной ранее методологии исследования биопленок в поиске биомаркеров развития инфекционных осложнений при РА.

Цель – оценить способность сывороток крови подавлять метаболическую активность бак-

терий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс биопленок у пациентов с РА, гнойно-воспалительными заболеваниями и у здоровых лиц.

Материал и методы

Нами были исследованы сыворотки крови 28 пациентов с РА, 20 пациентов с гнойно-воспалительными процессами и 48 здоровых лиц.

Диагноз РА устанавливался в соответствии с критериями 2010 года [28].

Основные клинические данные пациентов с РА и гнойно-воспалительными процессами приведены в таблицах 1 и 2.

Кровь у пациентов забиралась натощак с 8 до 9 часов утра из локтевой вены, центрифугировалась со скоростью 1500 оборотов в минуту в течение 10 минут; сыворотка отбиралась, замораживалась и хранилась при -25°C .

В исследовании оценивалась способность сывороток подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки *S. aureus* и разрушать экзополимерный матрикс бактериальной биопленки.

Для определения способности сывороток подавлять нативную биопленку использовали музейный штамм *S. aureus* (ATCC 6538), обладающий умеренной способностью к биопленкообразова-

Таблица 1 – Клиническая характеристика пациентов с ревматоидным артритом

Параметр	Значение
Пол, n (%) женщин	26 (92,86)
Возраст, лет	56,00 (95%ДИ: 51,18 – 59,82)
Возраст начала заболевания, лет	44,00 (95%ДИ: 35,79 – 51,00)
Число болезненных суставов из 28	6,00 (95%ДИ: 1,00 – 11,63)
Число припухших суставов из 28	3,00 ((95%ДИ: 1,00 – 6,82)
Уровень СОЭ, мм/ч	17,00 (95%ДИ: 8,00 – 32,86)
Уровень СРБ, мг/мл	11,50 (95%ДИ: 2,85 – 23,27)
Активность заболевания по индексу DAS28	4,35 (95%ДИ: 3,66 – 5,15)
Активность заболевания по индексу SDAI	21,15 (95%ДИ 12,14 – 29,11)
Активность заболевания по индексу CDAI	17,80 (95%ДИ 10,48 – 28,24)
Системные проявления, n (%)	14 (50,00)
РФ-позитивные, n (%)	20 (71,43)
АЦЦП-позитивные, n (%)	24 (85,71)
Метотрексат, n (%)	17 (60,71)
Доза метотрексата, мг/нед.	10,00(95%ДИ 7,50 – 15,00)
Низкие дозы глюкокортикоидов, n (%)	20 (71,42)

Примечание: СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок; DAS28 – Disease activity score 28; SDAI – simple disease activity index; CDAI – clinical disease activity index; РФ – ревматоидный фактор; АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду.

Таблица 2 – Клиническая характеристика пациентов с гнойно-воспалительными процессами

Параметр	Значение
Пол, n (%) женщин	11 (55,0)
Возраст, лет	52,00 (95%ДИ: 48,24 - 72,36)
Койко/день, сут	12,00 (95%ДИ: 9,00 - 34,00)
Уровень СРБ, мг/мл	36,50 (95%ДИ: 9,64 - 156,12)
Уровень СОЭ, мм/ч	21,23 (95%ДИ: 18,64 - 29,6)
Лейкоциты, *10 ⁹ /л	15,4 (95%ДИ: 7,85 - 24,25)

Примечание: СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок.

нию. Штамм переносили на агар и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. В асептических условиях с помощью бактериологической петли готовили взвесь на бульоне Мюллера-Хинтона с оптической плотностью 0,5 единиц оптической плотности McFarland на денситометре, что соответствует конечной концентрации 1,5x10⁸ КОЕ/мл. В лунки полистиролового планшета вносили по 150 мкл полученной взвеси бактерий. Отрицательным контролем служили лунки с 150 мкл бульона Мюллера-Хинтона без бактерий. Герметично закрытый планшет инкубировали в термостате при 37°C в течение 48 часов.

С помощью автоматической мойки добавляли в лунки по 200 мкл дистиллированной воды. Лунки четырехкратно промывали с помощью автоматической мойки, используя 200 мкл дистиллированной воды на одну лунку на один цикл. После инкубации в контрольные лунки планшета добавляли по 0,15 мл 0,05% раствора ТТХ (трифенилтетразолия хлорид), разведенного на бульоне Мюллера-Хинтона. Восстановление ТТХ происходит только в живых, активно метаболизирующих бактериях, что приводит к изменению цвета био пленки, интенсивность которого прямо пропорциональна количеству активных бактерий. В опытные лунки вносили по 0,15 мл 10% сыворотки крови, разведенные на 0,05% раствора ТТХ в бульоне Мюллера-Хинтона. Инкубировали планшет при температуре 37°C в течение 3 часов. Далее лунки четырежды отмывали по 0,2 мл дистиллированной водой для удаления среды. Для растворения био пленки в лунки добавляли по 0,2 мл раствора диметилсульфоксида и инкубировали 30 минут при комнатной температуре.

Далее измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 492 нм. Подавление метаболической активности бактерий в био пленке оценивали по формуле в единицах оптической плотности (ЕОП):

$$C = (E_k - E_{оп}) / E_k,$$

где:

С – уровень подавления метаболической активности бактерий в био пленке;

Ек – оптическая плотность контрольных лунок;

Еоп – оптическая плотность опытных лунок.

Способность сывороток разрушать экзополимерный матрикс био пленки оценивали с помощью разработанного нами метода [29]. В стерильную чашку Петри с агаром Мюллера – Хинтона помещали стерильную инертную полимерную мембрану, прижимали стеклянным грузом и вносили 0,5 мл взвеси *S. aureus* в концентрации 1,5x10⁸ КОЕ/мл и 5 мл 0,9% NaCl. Чашку Петри инкубировали в течение 3 сут. при температуре 37°C. Мембрану извлекали из чашки Петри, био пленку с мембраны смывали стерильным физиологическим раствором. К полученной суспензии добавляли в избытке 0,5% раствор Конго красного. Суспензию дважды отмывали раствором 0,9% NaCl для удаления не связавшегося Конго красного с осаждением матрикса центрифугированием при 1000 оборотов в мин. (200 г) в течение 75 минут после каждой отмывки. Суспензию замораживали и хранили при –25°C до использования. Для приготовления рабочей суспензии матрикса био пленки разводили размороженную суспензию матрикса раствором 0,9% NaCl до оптической плотности 2,5 Еоп на спектрофотометре при длине волны 492 нм в лунке 96-луночного планшета для ИФА. Далее 0,1 М раствором фосфатного буфера с рН 7,4 доводили оптическую плотность суспензии до 2 Еоп. В 1 мл рабочей суспензии содержалось 12,2 мг сухого матрикса и 0,1 мг Конго красного. В качестве консерванта в суспензию добавляли азид натрия до концентрации 2 мг/мл. Реакцию ставили в пробирках типа эппендорф. Реакционная смесь состояла из 0,1 мл исследуемой сыворотки в 10-кратном разведении на 0,9% NaCl и 0,3 мл рабочей суспензии экзополимерного матрикса био пленки. После инкубации в течение

ние 24 ч при 37°C реакцию смесь центрифугировали 10 мин при 10 тыс. оборотов в минуту (7930 g) и переносили по 0,15 мл надосадка в лунки планшета для иммуноферментного анализа. Далее производили учет результатов реакции на спектрофотометре по увеличению оптической плотности надосадка при длине волны 492 нм в сравнении с отрицательными контрольными пробами, где вместо раствора исследуемого препарата использовали 0,9% NaCl. Оптическая плотность надосадка определяется концентрацией высвободившегося Конго красного и пропорциональна степени разрушения матрикса биопленки. Концентрацию Конго красного в надосадке определяли в мг/мл по формуле:

$$K = [-0,005 + 0,049 \times (E_{оп} - E_{к})] \times 1000,$$

где:

K – концентрация высвободившегося конго-красного в мкг/мл надосадка;

E_{оп} – оптическая плотность в опытной лунке;

E_к – оптическая плотность в контрольной лунке. Формула выведена на основании графика зависимости оптической плотности раствора от концентрации Конго красного в мг/мл.

Для статистического анализа использовали методы непараметрической статистики, критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых переменных, ROC-анализ – для оценки диагностической значимости исследуемого метода. Уровень значимости для сравнения групп был рассчитан с поправкой Бонферрони и составил менее 0,017.

Результаты

Наименьший уровень активности сывороток в отношении нативной биопленки выявлен у пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями. У пациентов с РА и гнойно-воспалительными заболеваниями способность сыворотки подавлять метаболическую активность биопленок

была ниже, чем у здоровых лиц (табл. 3, рис. 1).

Наиболее высокая способность сывороток разрушать экзополимерный матрикс биопленки наблюдалась у здоровых лиц и была значимо выше по сравнению с РА и гнойно-воспалительными заболеваниями (табл. 4, рис. 2). Наблюдалась слабая достоверная корреляция ($r=0,29$; $p=0,033$; $n=53$) между способностью сывороток подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс.

Методом ROC-анализа установлено, что использование метода по определению разрушающей матрикс биопленки способности сыворотки крови позволяет разграничить пациентов с РА и здоровых лиц: площадь под ROC-кривой 0,87, 95%ДИ 0,73-0,95, $p=0,0001$ (рис. 3). Чувствительность метода при пороговой концентрации Конго красного 24,25 мкг/мл составляет 92,86%, специфичность – 82,14%. Несколько ниже, но все же достоверны, оказались характеристики ROC-кривой для разграничения гнойно-воспалительных заболеваний и здоровых лиц: площадь

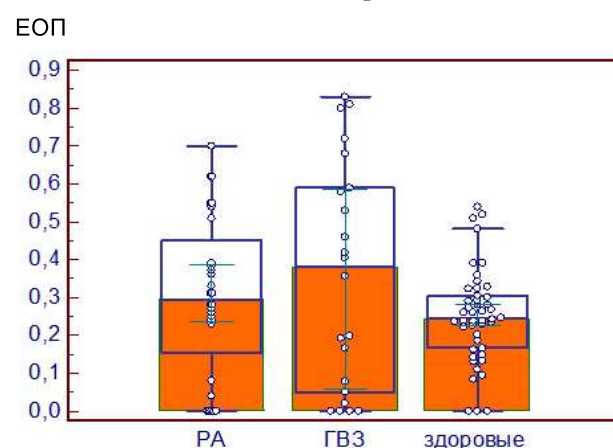


Рисунок 1 – Подавление метаболической активности бактерий *S. aureus* в нативной биопленке под действием сыворотки крови: РА – ревматоидный артрит, ГВЗ – гнойно-воспалительные заболевания, ЕОП – единицы оптической плотности

Таблица 3 – Способность сывороток крови подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки *S. aureus*

Номер группы	Группа	Степень подавления метаболической активности бактерий биопленки Медиана (95% ДИ), ЕОП	Достоверность отличия между группами
1	Ревматоидный артрит, n=28	0,30 (0,24-0,38)	P1-3<0,001 P2-3=0,0022 P1-2>0,05
2	Гнойно-воспалительные заболевания, n=23	0,19 (0 – 0,50)	
3	Здоровые лица, n=48	0,57 (0,24 – 0,72)	

Таблица 4 – Способность сывороток крови разрушать экзополимерный матрикс биопленки *S. aureus*

Номер группы	Группа	Концентрация Конго красного Медиана (95%ДИ), мг/мл	Достоверность отличия между группами
1	Ревматоидный артрит, n=28	22,07 (19,72-23,86)	P1-3=0,005 P2-3<0,001 P1-2>0,05
2	Гнойно-воспалительные заболевания, n=11	23,27 (20,27-25,07)	
3	Здоровые лица, n=14	25,13 (24,56-28,13)	

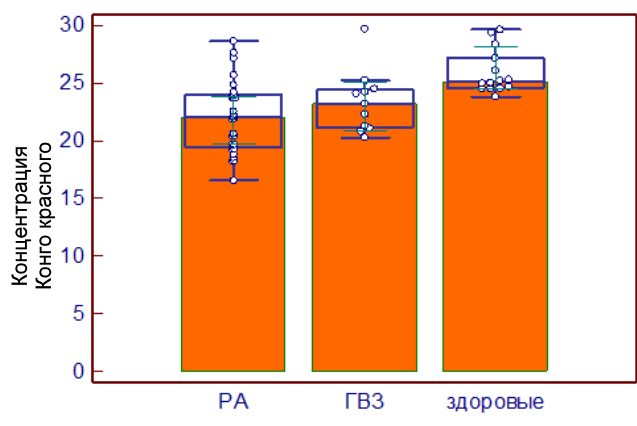


Рисунок 2 – Способность сыворотки крови разрушать экзополимерный матрикс биопленки *S. aureus*:

РА – ревматоидный артрит,

ГВЗ – гнойно-воспалительные заболевания

под ROC-кривой 0,79, 95%ДИ 0,58-0,93, $p=0,001$ (рис. 4). Чувствительность метода при пороговой концентрации Конго красного 24,96 мкг/мл составляет 80,00%, специфичность – 80,00%.

Полученные данные можно интерпретиро-

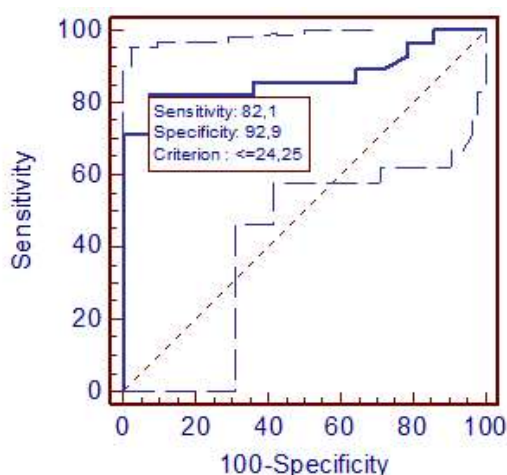


Рисунок 3 – ROC-кривая теста для разграничения пациентов с ревматоидным артритом и здоровых лиц на основе способности сыворотки крови разрушать матрикс биопленки *S. aureus*

вать как подтверждение *in vitro* большей восприимчивости к инфекции пациентов с РА по сравнению со здоровыми лицами.

Таким образом, нами впервые установлена сниженная способность сыворотки крови пациентов с РА подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс биопленки. Используемые в работе методы являются надежными и воспроизводимыми, и в тоже время простыми для рутинного использования. Дальнейшие исследования в данном направлении должны включать определение базального уровня активности сыворотки против нативной биопленки и матрикса у различных пациентов с РА: в зависимости от длительности заболевания, клинических и иммунологических особенностей, используемой терапии. Представляет интерес проведение проспективных исследований со статистической оценкой риска развития инфекционных осложнений при РА в зависимости от исходных показателей активности сыворотки по отношению к бактериальной биопленке. Целесообразно исследование влияния противоревма-

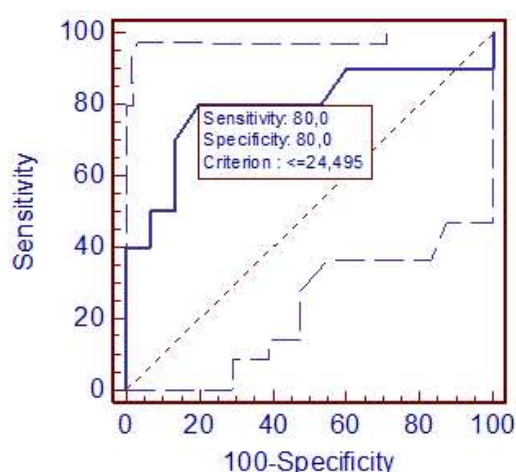


Рисунок 4 – ROC-кривая теста для разграничения пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями и здоровых лиц на основе способности сыворотки крови разрушать матрикс биопленки *S. aureus*

тических лекарственных средств непосредственно на биопленку. В этом контексте заслуживает внимание работа, в которой было показано, что флуфенамовая кислота – нестероидный противовоспалительный препарат, используемый для купирования боли при РА, – может предотвращать образование биопленки на медицинских имплантатах и разрушать ультраструктуру клеточной стенки бактерий. Секвенирование РНК и количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией показали, что флуфенамовая кислота ингибирует экспрессию генов *S. aureus*, связанных с биосинтезом пептидогликанов, устойчивостью к бета-лактамам, функционированием и ростом биопленок [30].

Взаимодействие организма–хозяина и биопленки следует рассматривать, полагаясь на новые научные сведения, особенно касающиеся механизмов врожденного иммунитета, например, нетоза, который представляет собой высвобождение нейтрофилов сети, состоящей из ДНК, связанной с цитоплазматическими гистонами и гранулярными цитоплазматическими белками, которые обладают бактерицидной активностью [31]. Эти сети, называемые нейтрофильными внеклеточными ловушками, улавливают микроорганизмы (от бактерий до грибов и вирусов) [32], иногда убивая их. Формирование биопленки в противоположность планктонной форме существования бактерий является одним из возможных механизмов формирования микробной устойчивости к нетозу. Микробные дезоксирибонуклеазы (ДНКазы) остаются наиболее мощными ингибиторами ловушкообразования [33]. Установлено, что некоторые патогены встраивают нетозный хроматин в свой внеклеточный матрикс и смешивают его со своей собственной ДНК, формируя биопленки, устойчивые к антибиотикам [34]. В этой связи представляют интерес данные о повышенной сывороточной ДНКазной активности при РА, которые требуют переосмысления и дальнейших исследований [35].

Отдельным направлением исследований является изучение влияния гуморального иммунитета на биопленки, особенно при заболеваниях, сопровождающихся синтезом аутоантител. Описаны нативные человеческие моноклональные антитела, которые разрушают бактериальные биопленки, извлекая из матрицы биопленки ключевые каркасные белки семейства DNABII, которые присутствуют как у грамм-положительных, так и у грамм-отрицательных видов бактерий

[36]. Обнаружение антител против DNABII у всех обследованных доноров без активной инфекции позволяет предположить, что у большинства здоровых людей могут периодически появляться резервуары бактериальных биопленок, которые выделяют бактерии, создавая постоянный воспалительный стимул низкого уровня. Ранее было показано деструктивное действие иммуноглобулинов на матрикс биопленки у пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями [27] и прямое бактерицидное действие иммуноглобулинов [37]. В этом направлении представляет интерес исследование ферментативной активности антител к компонентам биопленки, разработка препаратов иммуноглобулинов, обладающих специфической антимикробной активностью [38].

Таким образом, исследования на стыке микробиологии и клинической медицины являются перспективными как для понимания патогенеза патологических процессов, так и разработки новых диагностических инструментов и терапевтических средств.

Заключение

1. Установлена сниженная способность сыворотки крови пациентов с РА и гнойно-воспалительными заболеваниями подавлять метаболическую активность бактерий нативной биопленки и разрушать экзополимерный матрикс биопленки.

2. Требуется дальнейшие исследования в данном направлении для определения патогенетических механизмов и диагностического применения полученных данных.

Благодарность группа авторов выражает рецензентам и редакционной коллегии.

Источники финансирования: Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Влияние гуморальных «факторов системы иммунитета на бактериальную биопленку» при финансовой поддержке гранта БРФФИ по договору от 02.05.2023 № M23M-108.

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to the reviewers of the article and the editorial board.

The sources of funding. The study was carried out as a part of the research “The influence of the immunity humoral factors on the bacterial biofilm” with financial assistance of BRFFR grant under the Treaty, dated May 2, 2023 M23M-108.

Литература

1. McInnes, I. B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis / I. B. McInnes, G. Schett // *N. Engl. J. Med.* 2011 Dec. Vol. 365, N 23. P. 2205–2219. doi: 10.1056/NEJMra1004965
2. Ревматоидный артрит: социально-экономическая значимость и современные подходы к иммунопатогенетическому лечению / М. В. Волкова [и др.] // *Вестн. ВГМУ.* 2020. Т. 19, № 6. С. 20–30.
3. Клинический полиморфизм ревматоидного артрита в белорусской популяции пациентов / Е. В. Кундер [и др.] // *Медицина.* 2017. № 2. С. 63–68.
4. Кундер, Е. В. Полиморфизм ревматоидного артрита как основа персонализированной терапии заболевания / Е. В. Кундер, М. В. Волкова // *Лечеб. дело.* 2017. № 1. С. 57–64.
5. Edwards, C. J. Early environmental factors and rheumatoid arthritis / C. J. Edwards, C. Cooper // *Clin. Exp. Immunol.* 2006 Jan. Vol. 143, N 1. P. 1–5. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02940.x
6. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis / H. Kallberg [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* 2007 May. Vol. 80, N 5. P. 867–875. doi: 10.1086/516736
7. Scher, J. U. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases / J. U. Scher, D. R. Littman, S. B. Abramson // *Arthritis Rheumatol.* 2016 Jan. Vol. 68, N 1. P. 35–45. doi: 10.1002/art.39259
8. Microbiota-Dependent Involvement of Th17 Cells in Murine Models of Inflammatory Arthritis / H. Evans-Marin [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* 2018 Dec. Vol. 70, N 12. P. 1971–1983. doi: 10.1002/art.40657
9. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors / M. M. J. Nielen [et al.] // *Arthritis Rheum.* 2004 Feb. Vol. 50, N 2. P. 380–386. doi: 10.1002/art.20018
10. Oral microbial dysbiosis linked to worsened periodontal condition in rheumatoid arthritis patients / J. D. Correa [et al.] // *Sci. Rep.* 2019 Jun. Vol. 9, N 1. Art. 8379. doi: 10.1038/s41598-019-44674-6
11. Predictors of serious infections in rheumatoid arthritis—a prospective Brazilian cohort / A. L. B. de Almeida [et al.] // *Adv. Rheumatol.* 2024 Mar. Vol. 64, N 1. P. 23. doi: 10.1186/s42358-024-00363-1
12. Severe infections in Portuguese patients with rheumatoid arthritis under biologic treatment - a multicenter, nationwide study (SIPPRA-B Study) / F. O. Pinheiro [et al.] // *ARP Rheumatol.* 2023 Apr-Jun. Vol. 2, N 2. P. 111–119.
13. Listing, J. The risk of infections associated with rheumatoid arthritis, with its comorbidity and treatment / J. Listing, K. Gerhold, A. Zink // *Rheumatology (Oxford).* 2013 Jan. Vol. 52, N 1. P. 53–61. doi: 10.1093/rheumatology/kes305
14. Barth, K. Long-term safety of biologic and targeted synthetic disease modifying drugs in rheumatology / K. Barth, H. Gill, N. Singh // *Curr. Opin. Rheumatol.* 2024 Mar. Vol. 36, N 2. P. 113–119. doi: 10.1097/BOR.0000000000000995
15. Serious infection risk of tofacitinib compared to biologics in patients with rheumatoid arthritis treated in routine clinical care / M. Riek [et al.] // *Sci Rep.* 2023 Oct. Vol. 13, N 1. Art. 17776. doi: 10.1038/s41598-023-44841-w
16. Davey, M. E. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular / M. E. Davey, G. A. O’Toole // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000 Dec. Vol. 64, N 4. P. 847–867. doi: 10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000
17. Bryers, J. D. Medical biofilms / J. D. Bryers // *Biotechnol. Bioeng.* 2008 May. Vol. 100, N 1. P. 1–18. doi: 10.1002/bit.21838
18. Davies, D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents / D. Davies // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2003 Feb. Vol. 2, N 2. P. 114–122. doi: 10.1038/nrd1008
19. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance / C. Uruén [et al.] // *Antibiotics (Basel).* 2020 Dec. Vol. 10, N 1. P. 3. doi: 10.3390/antibiotics10010003
20. Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force / W. E. Thomas [et al.] // *Cell.* 2002 Jun. Vol. 109, N 7. P. 913–923. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00796-1
21. Hijacking of immune defences by biofilms: a multifront strategy / D. Campoccia [et al.] // *Biofouling.* 2019 Nov. Vol. 35, N 10. P. 1055–1074. doi: 10.1080/08927014.2019.1689964
22. Serum inhibits *P. aeruginosa* biofilm formation on plastic surfaces and intravenous catheters / A. Hammond [et al.] // *J. Surg. Res.* 2010 Apr. Vol. 159, N 2. P. 735–746.
23. The inhibitory activity of serum to prevent bacterial adhesion is mainly due to apo-transferrin / R. Ardehali [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2003 Jul. Vol. 66, N 1. P. 21–28.
24. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development / P. K. Singh [et al.] // *Nature.* 2002 May. Vol. 417, N 6888. P. 552–555. doi: 10.1038/417552a
25. Abraham, N. M. A low molecular weight component of serum inhibits biofilm formation in *Staphylococcus aureus* / N. M. Abraham, K. K. Jefferson // *Microb. Pathog.* 2010 Dec. Vol. 49, N 6. P. 388–391. doi: 10.1016/j.micpath.2010.07.005
26. Serum proteases prevent bacterial biofilm formation: role of kallikrein and plasmin / J. Arenas [et al.] // *Virulence.* 2021 Dec. Vol. 12, N 1. P. 2902–2917. doi: 10.1080/21505594.2021.2003115
27. Оценка способности сывороток крови, иммуноглобулинов G пациентов с гнойно-воспалительными процессами и ряда ферментов к разрушению экзополимерного матрикса биопленок / В. К. Окулич [и др.] // *Хирургия. Восточ. Европа.* 2011. № 3. С. 9–17.
28. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative / D. Aletaha [et al.] // *Arthritis Rheum.* 2010 Sep. Vol. 62, N 9. P. 2569–2581. doi: 10.1002/art.27584
29. Способ определения активности веществ при его разрушающем действии на экзополимерный матрикс микробной биопленки : пат. 21167 Респ. Беларусь : МПК С2 С 12Q 1/18, G 01N 33/52 / Окулич В. К., Плотноков Ф. В., Кабанова А. А., Сенькович С. А.; заявитель и патентообладатель УО «Витеб. гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т». № а 20140326; заявл. 16.06.14; опубл. 28.02.16.
30. Antibacterial and antibiofilm effects of flufenamic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / S. Zhang [et al.] // *Pharmacol. Res.* 2020 Oct. Vol. 160. Art. 105067. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105067
31. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? / V. Brinkmann, A. Zychlinsky // *J. Cell. Biol.* 2012 Sep. Vol. 198, N 5. P. 773–783. doi: 10.1083/jcb.201203170
32. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo / B. G. Yipp [et al.] // *Nat. Med.* 2012 Sep. Vol. 18, N 9. P. 1386–1393. doi: 10.1038/nm.2847
33. DNA is an antimicrobial component of neutrophil extracellular

traps / T. W. Halverson [et al.] // PLoS Pathog. 2015 Jan. Vol. 11, N 1. Art. e1004593. doi: 10.1371/journal.ppat.1004593

34. Radic, M. Clearance of apoptotic bodies, NETs, and Biofilm DNA: implications for autoimmunity / M. Radic // Front Immunol. 2014 Jul. Vol. 5. P. 365. doi: 10.3389/fimmu.2014.00365

35. Клиническое значение ферментативной активности сыворотки крови, провоспалительных цитокинов и ферритина при ревматоидном артрите / М. В. Волкова [и др.] // Вестн. ВГМУ. 2019. Т. 18, № 5. С. 77–83.

36. Human antibody repertoire frequently includes antibodies to a

bacterial biofilm associated protein / S. Ryser [et al.] // PLoS One. 2019 Jul. Vol. 14, N 7. Art. e0219256. doi: 10.1371/journal.pone.0219256

37. Прямая бактерицидная активность иммуноглобулинов G из сыворотки пациентов с гнойно-воспалительными процессами, вызванными золотистым стафилококком / В. К. Окулич [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2017. № 4. С. 59–64. doi: 10.14427/jipai.2017.4.59

38. Клиническая абзимология. Достижения и перспективы / М. В. Волкова [и др.]. Минск : БелМАПО, 2019. 177 с.

Поступила 02.08.2024 г.

Принята в печать 18.10.2024 г.

References

- McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2011 Dec;365(23):2205-19. doi: 10.1056/NEJMra1004965
- Volkova MV, Kunder EV, Konevalova NYu, Frolova AV. Rheumatoid arthritis: socioeconomic significance and modern approaches to immunopathogenetic treatment. Vestn VGMU. 2020;19(6):20-30. (In Russ.)
- Kunder EV, Volkova MV, Buglova AE, Rudenko EV. Clinical polymorphism of rheumatoid arthritis in the Belarusian patient population. Meditsina. 2017;(2):63-8. (In Russ.)
- Kunder EV, Volkova MV. Rheumatoid arthritis polymorphism as a basis for personalized therapy of the disease. Lecheb Delo. 2017;(1):57-64. (In Russ.)
- Edwards CJ, Cooper C. Early environmental factors and rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol. 2006 Jan;143(1):1-5. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02940.x
- Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, van der Helm-van Mil AHM, et al. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. Am J Hum Genet. 2007 May;80(5):867-75. doi: 10.1086/516736
- Scher JU, Littman DR, Abramson SB. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. Arthritis Rheumatol. 2016 Jan;68(1):35-45. doi: 10.1002/art.39259
- Evans-Marin H, Rogier R, Koralov SB, Manasson J, Roeleveld D, van der Kraan PM, et al. Microbiota-Dependent Involvement of Th17 Cells in Murine Models of Inflammatory Arthritis. Arthritis Rheumatol. 2018 Dec;70(12):1971-83. doi: 10.1002/art.40657
- Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHMT, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. Arthritis Rheum. 2004 Feb;50(2):380-6. doi: 10.1002/art.20018
- Corrêa JD, Fernandes GR, Calderaro DC, Mendonça SMS, Silva JM, Albiero ML, et al. Oral microbial dysbiosis linked to worsened periodontal condition in rheumatoid arthritis patients. Sci Rep. 2019 Jun;9(1):8379. doi: 10.1038/s41598-019-44674-6
- de Almeida ALB, Resende Guimarães MFB, da Costa Pinto MR, Pereira LR, Gomides Reis AP, Bonfiglioli KR, et al. Predictors of serious infections in rheumatoid arthritis—a prospective Brazilian cohort. Adv Rheumatol. 2024 Mar;64(1):23. doi: 10.1186/s42358-024-00363-1
- Pinheiro FO, Rato MS, Madureira P, Araújo F, Salvador MJ, Fraga V, et al. Severe infections in Portuguese patients with rheumatoid arthritis under biologic treatment - a multicenter, nationwide study (SIPPRA-B Study). ARP Rheumatol. 2023 Apr-Jun;2(2):111-9.
- Listing J, Gerhold K, Zink A. The risk of infections associated with rheumatoid arthritis, with its comorbidity and treatment. Rheumatology (Oxford). 2013 Jan;52(1):53-61. doi: 10.1093/rheumatology/kes305
- Barth K, Gill H, Singh N. Long-term safety of biologic and targeted synthetic disease modifying drugs in rheumatology. Curr Opin Rheumatol. 2024 Mar;36(2):113-9. doi: 10.1097/BOR.0000000000000995
- Riek M, Scherer A, Möller B, Ciurea A, von Mühlengen I, Gabay C, et al. Serious infection risk of tofacitinib compared to biologics in patients with rheumatoid arthritis treated in routine clinical care. Sci Rep. 2023 Oct;13(1):17776. doi: 10.1038/s41598-023-44841-w
- Davey ME, O'Toole GA. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular. Microbiol Mol Biol Rev. 2000 Dec;64(4):847-67. doi: 10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000
- Bryers JD. Medical biofilms. Biotechnol Bioeng. 2008 May;100(1):1-18. doi: 10.1002/bit.21838
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev Drug Discov. 2003 Feb;2(2):114-22. doi: 10.1038/nrd1008
- Uruén C, Chopo-Escuin G, Tommassen J, Mainar-Jaime RC, Arenas J. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. Antibiotics (Basel). 2020 Dec;10(1):3. doi: 10.3390/antibiotics10010003
- Thomas WE, Trintchina E, Forero M, Vogel V, Sokurenko EV. Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force. Cell. 2002 Jun;109(7):913-23. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00796-1
- Campoccia D, Mirzai R, Montanaro L, Arciola CR. Hijacking of immune defences by biofilms: a multifront strategy. Biofouling. 2019 Nov;35(10):1055-1074. doi: 10.1080/08927014.2019.1689964
- Hammond A, Dertien J, Colmer-Hamood JA, Griswold JA, Hamood AN. Serum inhibits P. aeruginosa biofilm formation on plastic surfaces and intravenous catheters. J Surg Res. 2010 Apr;159(2):735-46. doi: 10.1016/j.jss.2008.09.003
- Ardehali R, Shi L, Janatova J, Mohammad SF, Burns GL. The inhibitory activity of serum to prevent bacterial adhesion is mainly due to apo-transferrin. J Biomed Mater Res A. 2003 Jul;66(1):21-8. doi: 10.1002/jbm.a.10493
- Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development.

- Nature. 2002 May;417(6888):552-5. doi: 10.1038/417552a
25. Abraham NM, Jefferson KK. A low molecular weight component of serum inhibits biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog*. 2010 Dec;49(6):388-91. doi: 10.1016/j.micpath.2010.07.005
 26. Arenas J, Szabo Z, van der Wal J, Maas C, Riaz T, Tønjum T, et al. Serum proteases prevent bacterial biofilm formation: role of kallikrein and plasmin. *Virulence*. 2021 Dec;12(1):2902-17. doi: 10.1080/21505594.2021.2003115
 27. Okulich VK, Senkovich SA, Plotnikov FV, Kabanova AA. Evaluation of the ability of sera, immunoglobulin G of patients with purulent inflammatory processes and several enzymes to degrade the exopolymeric matrix of biofilms. *Khirurgiya Vostoch Evropa*. 2011;(3):9-17. (In Russ.)
 28. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010 Sep;62(9):2569-81. doi: 10.1002/art.27584
 29. Okulich VK, Plotnikov FV, Kabanova AA, Senkovich SA; zayavitel' i patentoobladatel' UO «Viteb gos ordena Druzhby narodov med un-». Method for determining the activity of substances at its destructive effect on the exopolymeric matrix of microbial biofilm: pat 21167 Resp Belarus': MPK C2 S 12Q 1/18, G 01N 33/52. № a 20140326; zayavl 16.06.14; opubl 28.02.16. (In Russ.)
 30. Zhang S, Tang H, Wang Y, Nie B, Yang H, Yuan W, et al. Antibacterial and antibiofilm effects of flufenamic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacol Res*. 2020 Oct;160:105067. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105067
 31. Brinkmann V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012 Sep;198(5):773-83. doi: 10.1083/jcb.201203170
 32. Yipp BG, Petri B, Salina D, Jenne CN, Scott BNV, Zbytniuk LD, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med*. 2012 Sep;18(9):1386-93. doi: 10.1038/nm.2847
 33. Halverson TW, Wilton M, Poon KKH, Petri B, Lewenza S. DNA is an antimicrobial component of neutrophil extracellular traps. *PLoS Pathog*. 2015 Jan;11(1):e1004593. doi: 10.1371/journal.ppat.1004593
 34. Radic M. Clearance of apoptotic bodies, NETs, and Biofilm DNA: implications for autoimmunity. *Front Immunol*. 2014 Jul;5:365. doi: 10.3389/fimmu.2014.00365
 35. Volkova MV, Kunder EV, Generalov II, Senkovich SA, Kunder VI. Clinical significance of serum enzymatic activity, proinflammatory cytokines and ferritin in rheumatoid arthritis. *Vestn VGMU*. 2019;18(5):77-83. (In Russ.)
 36. Ryser S, Tenorio E, Estellés A, Kauvar LM. Human antibody repertoire frequently includes antibodies to a bacterial biofilm associated protein. *PLoS One*. 2019 Jul;14(7):e0219256. doi: 10.1371/journal.pone.0219256
 37. Okulich VK, Senkovich SA, Lepteeva TN, Shilin VE, Denisenko AG. Direct bactericidal activity of immunoglobulin G from serum of patients with suppurative inflammatory processes caused by *Staphylococcus aureus*. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2017;(4):59-64. (In Russ.). doi: 10.14427/jipai.2017.4.59
 38. Volkova MV, Zhiltsov IV, Kunder EV, Senkovich SA. Clinical abzymology. Achievements and perspectives. Minsk, RB: BelMAPO; 2019. 177 p. (In Russ.)

Submitted 02.08.2024

Accepted 18.10.2024

Сведения об авторах:

Т.Н. Лептеева – ассистент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0002-5364-9909>,

e-mail: taisiyalepteeva@yandex.by – Лептеева Таисия Николаевна;

С.А. Сенькович – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

М.В. Масько – д.м.н., доцент кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Е.Е. Булынская – преподаватель-стажер кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

А.Н. Угалев – старший преподаватель кафедры общей и ортопедической стоматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

T.N. Lepteeva – lecture of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-5364-9909>,

e-mail: taisiyalepteeva@yandex.by – Taisiya N. Lepteeva;

S. A. Senkovich – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

M.V. Masko – Doctor of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

J.J. Bulinska – teacher-trainee of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

A.N. Ugalev – senior lecturer of the Chair of General and Orthopedic Dentistry with the course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.